Aus der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. H. J. Heidrich
und dem Max-Planck-Institut für Tierzucht und Tierernährung
Mariensee/Trenthorst
Direktor: Prof. Dr. M. Witt

UNTERSUCHUNGEN ÜBER HORMONINDUZIERTE OVULATIONEN VON ZWEI UND DREI EIZELLEN BEIM RIND

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

WALTER HOLM
Tierarzt aus Klein Stove

Berlin 1963
Journal - Nr. 412

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548012_0024

Aus der Klinik für Tiergeburtshilfe und Klauentierkrankheiten
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin
(Direktor : Prof. Dr. H. J. Heidrich)

und dem Max-Planck-Institut für Tierzucht und Tierernährung
Mariensee / Trenthorst
(Direktor : Prof. Dr. M. Witt)

UNTERSUCHUNGEN ÜBER HORMONINDUZIERTE OVULATIONEN VON ZWEI UND DREI EIZELLEN BEIM RIND

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
WALTER HOLM
Tierarzt aus Klein Stove

Berlin 1963

Gedruckt mit der Genehmigung der Veterinär-medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

Dekan :	Prof. Dr. H. J. Heidrich
Referent :	Prof. Dr. H. J. Heidrich
Korreferent :	Prof. Dr. K. Bronsch

Tag der Promotion : 20. Februar 1963

Inhaltsübersicht

Seite

A. Einleitung 1

B. Literatur

1. Hormonale Steuerung von Follikelwachstum und Ovulation 2

2. Die zur Auslösung von Superovulationen benutzten Hormone 3

3. Versuche zur Auslösung von Superovulationen bei Laboratoriumstieren 5

4. Versuche zur Auslösung von multiplen Ovulationen beim Schaf 5

5. Versuche zur Auslösung von Superovulationen beim Rind 7

6. Die Erzeugung multipler Ovulationen beim Rind als Grundlage für Zwillingsträchtigkeiten 11

C. Material und Methodik

1. Hormonpräparate 15

2. Versuchstiere 15

3. Versuchsdurchführung 16

D. Versuchsergebnisse

I. Die Ei- und Follikelzahlen bei den verschiedenen Versuchsgruppen 18

1. Versuchsgruppe : Vorversuch mit verschiedenen PMS-Präparaten 18

Seite

2. Versuchsgruppe : Enukleation des Gelbkörpers, Vorbehandlung mit Progesteron und PMS-Applikation 24

3. Versuchsgruppe : Enukleation, Vorbehandlung mit Progesteron, Injektion von PMS und LH 28

4. Versuchsgruppe : PMS-Injektionen am Anfang und Ende der zyklischen Gelbkörperphase 33

II. Beobachtungen über die Brunst und Kontrolle der Eierstocktätigkeit mittels rektaler Untersuchung 41

1. Brunsterscheinungen bei den hormonbehandelten Kühen 42

2. Rektale Untersuchung der Ovarien 45

III. Histologische Untersuchung der Follikel 47

E. Diskussion der Ergebnisse 49

F. Zusammenfassung 54

Literaturverzeichnis 56

A. EINLEITUNG

Diese Untersuchung hatte zum Ziel, die methodischen Voraussetzungen zur Erzeugung von Zwillingsgeburten beim Rind zu erarbeiten. Bekanntlich wird das Rind den einfrüchtigen Tierarten zugeordnet, der Anteil an Zwillingsgeburten ist bei ihm relativ gering. In modernen experimentellen Arbeiten wurde gezeigt, daß es mit Hilfe von Sexualhormonen bei Haus- und Laboratoriumstieren möglich ist, die Zahl der Eier und zum Teil auch die Nachkommenzahl zu erhöhen. Diese Methoden wurden auch beim Rind verschiedentlich praktiziert. Eine erfolgsversprechende Voraussetzung für die Erzeugung von Zwillingsgeburten beim Rind besteht aber erst dann, wenn es auf diesem experimentellem Wege gelingt, die Zahl der ovulierten Eier nicht unbegrenzt und unkontrolliert zu vermehren, sondern auf zwei oder drei befruchtungsfähige Eizellen zu erhöhen. Die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen weisen aber eine hohe Variabilität in den Eizahlen nach Hormonbehandlungen auf, die von 1 bis 90 reicht. Dadurch besteht zunächst wenig Aussicht, jene gewünschte, zahlenmäßig begrenzte Anzahl an Eiern zu erzeugen. Die Ursache für die unterschiedlichen Reaktionen der Kühe sind weitgehend unbekannt. Besonders schwierig ist es, den Einfluß der Untersuchungsmethode selbst zu beurteilen und die Art der angewendeten Hormone, ihre Dosierung und zeitliche Applikation richtig auszuwählen. Wegen dieser unzureichenden Vorkenntnisse waren im Untersuchungsgang der folgenden Arbeit zwangsläufig verschiedene methodische Wege zu verfolgen.

Gegenüber diesen fortpflanzungsphysiologischen Grundfragen sollen in dieser Arbeit andere wichtige Probleme, die sich mit den Vor- und Nachteilen von Zwillingsträchtigkeiten und Zwillingsgeburten besonders in wirtschaftlich-ökonomischer Hinsicht befassen, unberücksichtigt bleiben. Zweifellos wäre von der Praxis aus gesehen eine Steigerung der Zwillingsgeburten für die Rinderhaltung von großer Bedeutung. Die gegenwärtig bestehende große Nachfrage nach wohlschmeckendem, fettfreiem Fleisch kann nur über junge Tiere, Mastkälber und Jungmastbullen, - ochsen, - rinder, erfüllt werden. Mit einem früheren Schlachtalter muß sich aber auch die Zahl der Schlachttiere

erhöhen. Ob das über einen hohen Anteil an Zwillingsgeburten zu erreichen ist und ob dazu die Anwendung von Hormonen eine brauchbare Methode darstellt, läßt sich zur Zeit nicht eindeutig beantworten. Derartige Überlegungen dürfen jedenfalls die Durchführung von experimentellen Untersuchungen über die physiologischen Zusammenhänge, wie sie im folgenden behandelt werden, nicht behindern.

B. LITERATUR

1. Hormonale Steuerung von Follikelwachstum und Ovulation

Der zyklische Ablauf fortpflanzungsphysiologischer Vorgänge an den Ovarien wird in den einschlägigen Lehrbüchern (ZIETSCHMANN und KROELLING 1955, COLE und CUPPS 1959, EIBL 1959, LLOYD 1959, ZUCKERMANN 1962 und anderer Autoren) ausführlich beschrieben. Danach beherbergen die Ovarien infantiler Rinder etwa 75 000 bis 100 000 Primärfollikel. Diese gehen besonders kurz nach der Geburt in großer Zahl zugrunde, ein Vorgang, der als Follikelatresie bezeichnet wird. Beim geschlechtsreifen Tier wachsen in Perioden immer mehrere Follikel bis zu einer Größe von 5 mm heran (HOEFLIGER 1948). Von diesen Follikeln erreichen jedoch nur einer, höchstens zwei, wenige Tage vor Eintritt der Brunst die Größe von 10 bis 20 mm und bilden den sprungreifen Graaf'schen Follikel. Die übrigen Follikel atresieren innerhalb weniger Tage. Aus dem geplatzten Follikel entwickelt sich ein Gelbkörper (corpus luteum), der mit acht bis zwölf Tagen das Maximum seiner inkretorischen Leistung erreicht hat. Seine Rückbildung beginnt, falls keine Konzeption eintritt, vom 14. bis 15. Tag an, und der neue Follikel kann heranwachsen.

Dieser zyklische Rythmus unterliegt einer Steuerung durch die Hormone des Hypophysenvorderlappens (HVL). Ungefähr vom 15. Tag an sondert die Hypophyse in verstärktem Maße das follikelstimulierende Hormon (FSH) ab, unter dessen Wirkung der Ovulationsfollikel heranreift und durch seine steigende Produktion an Follikelhormon schließlich die Brunstsymptome auslöst. Kurz vor der Ovualtion wird das Luteinisierungshormon (LH), wegen

seiner stimulierenden Wirkung auf die interstitiellen Zellen des Ovars auch ICSH (= interstitial cell stimulating hormone) genannt, wirksam. Es löst die Ovulation aus und regt die Bildung des Corpus luteum an, dessen weitere Funktion, die Bildung von Progesteron , durch das luteotrope Hormon (L TH) aufrechterhalten wird. Dabei scheint die wechselnde Ausschüttung von FSH und LH durch eine Art "Rückkoppelungsmechanismus" (ZUCKERMANN 1955) geregelt zu werden. Hat die Oestrogenproduktion des wachsenden Follikels ein bestimmtes Ausmaß erreicht, drosselt dieses Hormon die weitere Bildung des FSH, das heißt, LH kann voll wirksam werden. Sobald jedoch der Gelbkörper Progesteron zu sezernieren beginnt, hemmt dieses wiederum die LH-Ausschüttung.

2. Die zur Auslösung von Superovulationen benutzten Hormone

Als man wußte, daß die Hypophyse als übergeordnete endokrine Drüse den Sexualzyklus reguliert, lag es nahe, durch ihre Hormone das Zyklusgeschehen zu beeinflussen. Dies gelang erstmalig ENGLE im Jahre 1927. Durch Implantation von Teilen des HVL bei Mäusen konnte er deren Ovarien zur Ovulation vieler Eizellen anregen. In späteren Experimenten wurden mit gleichem Erfolg zu diesem Zwecke Extrakte aus Hypophysen von Pferden (FOLLEY and MALLPRESS 1949), Schweinen und Schafen(WILLETT, BUCKNER, McSHAN 1953) verwendet.

Da die technische Herstellung von Hypophysenextrakten relativ aufwendig und kostspielig ist, suchte man nach billigeren Präparaten. Schon 1930 hatten ZONDEK sowie COLE und HART unabhängig voneinander im Blutserum trächtiger Ponystuten hohe Mengen eines Hormones mit gonadotroper Wirkung festgestellt, das ein dem FSH weitgehend ähnliches Verhalten zeigte, eine Entdeckung, die 1933 von EVANS, MEYER und SIMPSON bestätigt wurde. Die follikelstimulierende Wirkung dieses PMS (= pregnant mare serum) genannten Präparates wurde in den folgenden Jahren durch eine Reihe von Versuchen an Ratten (SMITH 1935, COLE 1936) und Mäusen (ZONDEK 1940) nachgewiesen. Superovulationen bei Schafen konnten mit PMS erstmalig von

ZAVADOVSKII und ESKIN (1939) erzeugt werden.

Die follikelstimulierende Wirkung von PMS-Präparaten auf das Rinderovar wurde in einer Reihe von Versuchen bestätigt (HAMMOND jr. und BHATTACHARYA 1944, DOWLING 1949, ROWSON 1951, GORDON, WILLIAMS und EDWARDS 1962). In diesen Versuchen wurden PMS-Präparate verschiedener Verarbeitungsform geprüft. Über ihre unterschiedliche Wirkung berichtet HAMMOND (1949). Er fand, daß 1000I. E. von dem gereinigten PMS die gleiche Wirkung haben wie 1000 I. E. gefroren getrocknetes PMS oder 800 I. E. gefrorenes unbehandeltes Serum tragender Stuten. ROWSON (1951) fand Unterschiede zwischen Handelspräparaten und frisch gewonnenem PMS; die Wirkung des letzteren war eindeutig besser. Dagegen konnte ROBINSON (1951) mit Versuchen bei Schafen die von HAMMOND am Rind festgestellten Unterschiede zwischen den verschiedenen PMS-Präparaten nicht bestätigen. Er sucht diese widersprechenden Befunde mit Abweichungen in den Standardisierungsmethoden zu erklären.

Außer den verschiedenen FSH- und PMS-Präparaten sind in diesen Versuchen auch Hormone mit luteinisierender Wirkung zur Anwendung gekommen. Schon 1927 stellten ASCHHEIM und ZONDEK aus dem Harn schwangerer Frauen einen Extrakt her, den sie als Prolan bezeichneten. In späteren, u.a. von LIPPSCHÜTZ (1936) durchgeführten Untersuchungen zeigte sich, daß die Wirkung des Prolans dem des Luteinisierungshormons des HVL vergleichbar ist. Die ovulationsauslösende Wirkung dieses HCG (= human chorionic gonadotropin) oder PU (= pregnant urine) bezeichneten Präparates wies PINCUS (1940) nach. Er konnte durch intravenöse Prolaninjektionen beim Kaninchen Ovulationen ohne Kopulation erreichen.

Weitere Präparate, die Luteinisierungshormone enthalten und die bei diesen Untersuchungen angewendet wurden, sind unfraktionierte HVL-Extrakte von Schafen (USG) und Schweinen (HLH).

3. Versuche zur Erzeugung von Superovulationen bei Laboratoriumstieren

Die Möglichkeiten, Superovulationen durch Hormongaben zu erzeugen, sind zunächst bei verschiedenen Laboratoriumstieren erforscht worden. Wie bereits erwähnt, erhielt erstmalig ENGLE (1927) durch Implantation von HVL -Teilen bei Mäusen eine Vielzahl fertiler Eizellen. Später wurden vor allem Grundlagenexperimente zum Problem der Eitransplantation ausgeführt und studiert, wie mit Hilfe von Hormonpräparaten möglichst viele transplantationsfähige Eizellen gewonnen werden können. Beim Kaninchen gab PINCUS (1940) fünfmal in Abständen von zwölf Stunden HVL-Extrakte, gefolgt von einer sechsten intravenösen Injektion nach weiteren zwölf Stunden. Er erhielt mit dieser Methode eine hohe Anzahl befruchtungsfähiger Eizellen. In diesem Versuch prüfte PINCUS auch die Wirksamkeit verschiedener gonadotroper Hormone. Er fand, daß PMS weniger wirksam ist als HVL-Extrakte. Außerdem traten nach PMS-Injektionen mehr zystöse und hämorrhagische Follikel auf als bei Verwendung von FSH-Präparaten.

Versuche von WARWICK, MURPHREE und Mitarb. (1943) und CHANG (1948) zeigen, daß durch Superovulationen erzeugte Eizellen normal befruchtungsfähig sind. CHANG erhielt von 53 transplantierten Eizellen 45 Jungtiere. Über Einzelheiten dieses Problems berichtete CHANG (1950)

4. Versuche zur Auslösung von multiplen Ovulationen beim Schaf

Nachdem bei Versuchen an Laboratoriumstieren nachgewiesen war, daß durch hormonal ausgelöste Superovulationen entwicklungsfähige Eizellen gewonnen werden können, wurden die von PINCUS (1940), PARKES(1942) und CHANG (1949) entwickelten Versuchsschemata auf das Schaf übertragen. Dort bestand jedoch vor allem das Problem, die Herdenfruchtbarkeit zu steigern. Dabei sind die am Schaf durchgeführten Untersuchungen für die vorliegende Arbeit insofern von Interesse, als es sich hier um eine Tierart handelt, die eine Zwischenstellung zwischen den mehrfrüchtigen Laboratoriumstieren und dem als einfrüchtig geltenden Rind darstellt.

Mit HVL-Extrakten gelang es erstmalig CASIDA, WARWICK und MEYER (1944), Superovulationen beim Schaf zu erzeugen. Über die Verwendung von PMS-Präparaten liegen nach ROBINSON (1951) die ersten Ergebnisse von russischen Forschern vor. Weitere Versuche, in großen Herden die Ablammprozente zu erhöhen, sind von ROBINSON (1951) und GORDON(1958) durchgeführt worden. ROBINSON benutzte in seinen Versuchen 1947-1949 PU und PMS zum Teil in kombinierter Anwendung. Er verabreichte PU als zweimalige Dosis vier bis fünf Tage vor der Brunst subkutan und während der Brunst intravenös oder als einmalige intravenöse Injektion. PMS erhielten die Schafe vier bis fünf Tage vor der Brunst in Dosen von 500 bis 1500 I. E. Ein Teil dieser Tiere bekam während der Brunst eine zweite PMS -Dosis intravenös. Schließlich wurden PMS und PU kombiniert gegeben, wobei die PU-Injektion intravenös während der Brunst erfolgte.

Die besten Ovulationsergebnisse erhielt ROBINSON (1951) durch einmalige PMS-Injektionen. Bei Kombination PMS-PU zeigten sich schlechtere Resultate. Noch weiter sank die Ovulationsrate bei reiner PU-Behandlung. Auffallend war, daß nach den intravenösen PU-Gaben die Follikel noch stark an Umfang zunahmen, ohne jedoch zu ovulieren.

GORDON (1958) kommt in seinen Versuchen zu einer Übereinstimmung mit ROBINSON (1961). Er nahm PMS-Gaben von 400 bis 800 I. E. vier bis fünf Tage vor der Brunst als optimal an. Bei Verabreichung von 750 I. E. erhielt er 2,15 Lämmer pro Schaf gegenüber 1,26 in der Kontrollgruppe.

Aus der Arbeit GORDON's ist weiter zu ersehen, daß in der Versuchsgruppe, die 250 bis 600 I. E. erhielt, die Zahl von vier Lämmern bei der Geburt nicht überschritten wurde. Bei hoher PMS-Dosis stieg der Hundertsatz der Schafe mit fünf und mehr Lämmern an. ROBINSON und GORDON folgerten, daß bei hoher Eizahl wahrscheinlich eine Selbstreduktion auf fünf bis sieben Foeten eintritt. Diese hohe Foetenzahl kann unter Umständen auch ausgetragen werden. Allerdings ist die Mortalität der Neugeborenen bei Würfen von fünf Lämmern mit 90,6 % sehr hoch (GORDON 1958).

An sechs Herden verschiedener Fruchtbarkeit mit insgesamt 250 Schafen prüften HARING und Mitarb. (1961) die von ROBINSON (1951) und GORDON (1948) entwickelte Methode auf ihre Brauchbarkeit in der Praxis. Dabei fanden sie die Ansicht GORDON's bestätigt, daß eine Fruchtbarkeitssteigerung bei Verabreichung von 500 I. E. PMS vier bis fünf Tage vor der Brunst in Herden mit hoher Fruchtbarkeit nicht zu erwarten ist. Hingegen konnten in Herden mit niedriger Fruchtbarkeit die Ablammergebnisse um 25 %, die Aufzuchtergebnisse um 19 % erhöht werden. Störungen waren in keiner Weise zu beobachten. Sie bestätigen auch den Befund, daß sich die folgende Brunst bei Nichtkonzeption normal einstellt.

5. Versuche zur Auslösung von Superovulationen beim Rind

Die bisher durchgeführten Versuche, beim Rind Superovulationen auszulösen, hatten zwei verschiedene Ziele. Einmal wollte man von züchterisch besonders hochwertigen Tieren möglichst viele befruchtungsfähige Eizellen gewinnen, die dann in Wirtskühe, genetisch weniger wertvolle Tiere, übertragen werden sollten. In dieser Weise war man bestrebt, das Keimzellenreservoir der Kühe, ähnlich, wie dies beim Bullen bei der künstlichen Besamung geschieht, weiter auszunutzen. Auf der anderen Seite sind besonders in den letzten Jahren, Versuche gemacht worden, unter Anwendung ähnlicher Methoden, Zwillingsgeburten zu erzeugen. Hierbei war es jedoch notwendig, die Zahl der freigesetzten Eizellen von vornherein auf zwei bis drei zu beschränken, da bei höheren Eizahlen die Gefahr besteht, daß drei oder mehr Embryonen implantiert werden. Dies führt vielfach zu Störungen in der Gravidität und bei der Aufzucht der Kälber (HAMMOND 1949, GORDON 1961). In methodischer Beziehung bestehen keine grundsätzlichen Unterschiede zwischen beiden Verfahren. Vielmehr bauen auch jene Versuche, in denen nur eine begrenzte Anzahl von Eizellen gewonnen werden soll, auf den gleichen physiologischen Grundlagen auf, wie sie für die Erzeugung vieler Eizellen gelten.

Bereits 1935 gelang es ZAVADOVSKII und Mitarb., mit PMS Superovulationen

bei Kühen auszulösen. In späteren Versuchen wurden außer PMS auch gereinigte Extrakte aus den Hypophysen von Schweinen, Schafen (WILLETT, BUCKNER, McSHAN 1953) und Pferden (FOLLEY und MALLPRESS 1944) verwendet. Neben der Art der Hormonpräparate interessierten besonders der optimale Zeitpunkt der Verabreichung und die Dosierung. In Analogie zu Beobachtungen, wie sie bei anderen Tierarten gemacht wurden, zeigte PMS in diesen Versuchen eine Neigung zur Bildung von großen zystenartigen Follikeln, besonders, wenn es in hohen Dosen gegeben wurde (FOLLEY und MALLPRESS 1944, DOWLING 1949, WILLETT, McSHAN und MEYER 1952). Ebenfalls fiel bei hoher Dosierung die starke Variabilität in der Reaktion auf (GORDON 1961). Demgegenüber hoben DZIUK, DONKER und Mitarb. (1958) sowie DOWLING (1949) hervor, daß die Reaktion nach Behandlungen mit FSH von Schweinen und Pferden einheitlich war. DOWLING wies in diesem Zusammenhang weiter daraufhin, daß die Befruchtungsfähigkeit der Eizellen nach Verwendung von Schweinehypophysenextrakt mit 90% besonders hoch lag.

Es herrscht also Übereinstimmung darüber, daß Hypophysenextrakte zur Auslösung von Polyovulationen geeigneter sind als PMS-Präparate. Wenn letztere dennoch in erster Linie Verwendung finden, so erklärt sich diese Tatsache mit der einfacheren Herstellung und der Preiswürdigkeit.

Ein weiteres Problem bestand in der Frage nach dem optimalen Zeitpunkt der Applikation von FSH. Grundsätzlich kann man zu allen Zeiten des Zyklus Superovulationen auslösen. (ZAVADOVSKII 1935, CASIDA, MEYER, FOLLEY und MALLPRESS 1944, ROWSON 1952), sogar während der Gravidität, ohne daß dabei der Foetus geschädigt wurde (CASIDA, MEYER, McSHAN, WISNICKY 1943). Über den Einfluß des Zyklusstadiums auf die Reaktion liegen einander widersprechende Beobachtungen vor. WILLETT, McSHAN, MEYER (1952) erhielten bei Anwendung gleicher Dosen in der Follikelphase (16./17. Tag) etwa doppelt so viele Ovulationen wie in der Lutealphase Im Widerspruch dazu stehen die Befunde von ROWSON (1951) und BROCK und ROWSON (1952), die während der Lutealphase eine größere

Anzahl von Ovulationen erzeugen konnten. FOLLEY und MALLPRESS (1944) stellten bei Anwendung beider Methoden keine Unterschiede fest. Für die niedrige Ovulationsrate während der Follikelphase gibt ROWSON (1951) folgende Erklärung : sobald die ersten Follikel geplatzt seien, würde die sofort beginnende Progesteronproduktion die weitere LH-Ausschüttung drosseln. Weitere Ovulationen könnten danach nur bei Zufuhr exogenen LH's erfolgen. Dagegen können nach Stimulierung in der Gegenwart eines aktiven Gelbkörpers viele Follikel bis zur vollen Reife heranwachsen. Das Ergebnis von WILLETT, McSHAN und MEYER (1952), die in der Follikelphase mehr Ovulationen erhielten, sucht WILLETT (1953) dadurch zu erklären, daß der scheinbar inaktive Gelbkörper eben doch noch in Funktion war.

Übereinstimmend wurde jedoch in allen Versuchen festgestellt, daß in Gegenwart eines aktiven C.l. gewonnene Eizellen nicht befruchtet waren (ZAVADOVSKII, ESKIN und OVSJANNIKOV 1935, CASIDA und Mitarb. 1940, CASIDA und Mitarb. 1943, ROWSON 1951, WILLETT, McSHAN und MEYER 1952). Ob es sich dabei um Entwicklungsstörungen der Eizellen handelt, oder ob andere Faktoren deren Befruchtung verhindern, kann nicht eindeutig entschieden werden. Störungen im Spermatransport, wie sie beim Kaninchen festgestellt wurden, können nicht allein dafür verantwortlich sein, zumal BESHLEBNOV (1938) und VAN DEMARK und MOELLER (1951) beim Rind beobachteten, daß Spermien die Ovarien auch bei nichtbrünstigen Tieren erreichen können. Verschiedentlich wurde jedoch auf Veränderungen der Geschwindigkeiten des Eitransportes hingewiesen, der mit Progesteron beschleunigt wurde (ROWSON 1951). Andere Untersucher (ULBERG, CHRISTIAN und CASIDA 1951) glauben an eine hohe Mortalität der Embryonen. Interessanterweise konnten AVERY und GORDON (1961) durch Stilboestrolgaben den nachteiligen Einfluß des C.l. -Hormons auf die Befruchtung weitgehend reduzieren.

Da also offenbar das C.l. einen negativen Einfluß auf die Befruchtung oder Entwicklung der Eizellen ausübte, hat man es in verschiedenen Versuchen durch rektale Enukleation entfernt. Derartige Versuche wurden erstmalig

von HAMMOND und BHATTACHARYA 1944 durchgeführt, die das C.l. zwischen dem 8. und 12. Tag, drei Tage nach einer ersten PMS-Injektion, enukleierten. In gleicher Weise behandelte DOWLING (1949) 33 Tiere. Dabei konnten von 138 Eizellen nur 38 % geborgen werden. Von diesen waren wiederum nur 38 % befruchtet. Die Unterschiede zwischen den Ergebnissen einzelner Tiere waren außerordentlich groß. DOWLING kam, ähnlich wie später ROWSON (1951) sowie BROCK und ROWSON (1952), zu dem Schluß, daß eine Follikelstimulierung mit gonadotropen Hormonen in der Lutealphase bei gleichzeitiger Entfernung des C.l. in einem großen Teil der Fälle zur Bildung von Follikelzysten führt.

Als die bislang beste Methode zur Erzeugung von Superovulationen beim Rind erwies sich die Behandlung in der Follikelphase, das heißt. etwa vom 15. Tage an. Die hierbei beobachteten Schwankungen in den Eizahlen waren geringer als nach Enukleation. HAMMOND und BHATTACHARYA (1944), DOWLING (1949), ROWSON (1951) und eine Reihe anderer Forscher haben diese Methode angewandt. Von Bedeutung ist bei derartiger Versuchsdurchführung wahrscheinlich das Intervall zwischen der Injektion von FSH und dem Auftreten der Brunst. Als günstigsten zeitlichen Abstand nahmen BROCK und ROWSON (1952) fünf Tage an. Als die Mindestzeit für die Reifung der stimulierten Follikel schätzte HAMMOND (1949) zwei Tage. GORDON(1962) wies darauf hin, daß die Reaktion der Ovarien nach der Behandlung mit PMS vor dem 16. und nach dem 18. Tag herabgesetzt ist.

Neben der Art der Präparate und dem Zeitpunkt ihrer Applikation war schließlich auch ihre Dosierung von Bedeutung. Hypophysenextrakte wurden fünfmal in täglichen Dosen von 20 bis 40 g. s. (= Grammäquivalente) (WILLETT, McSHAN, MEYER 1952) oder 300 mg (DOWLING 1949), verteilt auf mindestens drei Tage, verabreicht. PMS ist in den vorliegenden Versuchen zwischen 800 und 6000 I. E. gegeben worden. Während bei 800 I. E. nur 33 % der Tiere eine Ovulation zeigten (GORDON 1962), scheint die maximale Follikelstimulation mit 3000 bis 4000 I. E. erreicht zu sein. (FOLLEY und MALLPRESS 1944). GORDON konnte bei 800 I. E. 1,43 Ovu-

lationen bei einer Streuung von einer bis fünf Ovulationen erzeugen. Bei 2000 I. E. war die mittlere Ovulationsrate 3,97 bei einer Streuung von 1 bis 25 Eizellen pro Tier. Die Zahl der Ovulationen nimmt also ganz offentsichtlich mit steigender Dosis zu.

Die Frage, wie weit zur Auslösung von Superovulationen Hormonpräparate mit luteinisierender Wirkung notwendig sind, wird in der Literatur sehr unterschiedlich beantwortet. HAMMOND (1955) ist der Auffassung, daß sich das FSH-LH-Verhältnis in der Reihenfolge Pferd-Schwein-Schaf-Rind zugunsten des LH verschiebt. Schaf und Rind wären demnach Tiere mit einem "Überschuß" an LH, müßten somit in der Lage sein, mehrere Follikel zur Ovulation zu bringen. In verschiedene Untersuchungen sind jedenfalls hohe Eizahlen auch ohne zusätzliches LH erzeugt worden (HAMMOND 1949, GORDON 1962). BROCK und ROWSON (1952) konnten aber andererseits durch intravenöse Verabreichung von LH-Präparaten die Ovulationsrate deutlich erhöhen. Sehr wahrscheinlich ist LH erforderlich, wenn Polyovulationen in der Lutealphase ausgelöst werden sollen, wie Versuche von WILLETT, McSHAN und MEYER (1952) sowie BROCK und ROWSON (1952) zeigten. Zu ähnlichen Ergebnissen kam ROWSON (1951). WILLETT, McSHAN und MEYER (1952) stellten fest, daß die Kombination PMS-USG mehr Ovulationen, die Kombination PMS-HCG jedoch mehr befruchtete Eizellen ergab. Wahrscheinlich besitzt USG noch einen hohen Anteil FSH.

BROCK und ROWSON (1952) halten den 5. Tag nach der PMS-Injektion für die LH-Applikation geeignet, jedoch sollte es nicht vor Auftreten der ersten Brunstsymptome gegeben werden.

6. Die Erzeugung multipler Ovulationen als Grundlage für Zwillingsträchtigkeiten beim Rind

Eine andere Problemstellung ergab sich, als man versuchte, durch die Erzeugung von Zwillings- und Drillingsgeburten die Fruchtbarkeit der Rinderherden zu erhöhen, wie es in ähnlicher Weise beim Schaf schon praktiziert

wurde. Während über die Fähigkeit einer Kuh, Drillinge auszutragen und aufzuziehen, nur wenige Erfahrungen vorliegen, hat eine Vierlingsträchtigkeit fast immer einen pathologischen Verlauf. Deshalb mußten diese Versuche zunächst zum Ziele haben, den Ablauf der Ovulation so zu steuern, daß nur zwei bis drei Eizellen freigesetzt wurden.

Erste Versuche dieser Art wurden 1944 von HAMMOND und BHATTACHARYA angestellt. Dabei erhielt ein Teil der Tiere etwa wenige Tage vor der Brunst PMS. Hierdurch hoffte man, einige wenige Follikel, die am weitesten entwickelt waren, zur Ovulation zu bringen. Die sofort nach der Ovulation beginnende Luteinisierung sollte die Ovulation weiterere Follikel verhindern. Bei den restlichen 17 Tieren wurde zwischen dem 8. und 12. Tag des Zyklus der Gelbkörper enukleiert. Zugleich mit der Enukleation bekamen die Tiere 1500 I. E. PMS. Bei maximal fünf Ovulationen wurden im Durchschnitt 2,6 Eizellen pro Tier freigesetzt.

In einem späteren Versuch, den HAMMOND (1949) durchführte, erhielten 33 Kühe am Ende des Zyklus 2000 I. E. PMS. 19 davon wurden tragend, zweimal wurde eine Zwillingsovulation festgestellt. Von 23 Kühen, die zur gleichen Zeit 2500 I. E. erhielten, wurden 20 tragend, fünf zeigten Zwillingszwei Drillingsovulationen und eine Vierlingsovulation. Nur in dieser Gruppe hatte also ein Drittel der Versuchstiere die gewünschte Eizahl gebracht.

Einer zweiten Versuchsgruppe von sieben Tieren gab HAMMOND zwei bis drei Tage vor der Enukleation etwa in der Mitte des Zyklus 2000 bzw. 2500 I. E. PMS. 20 Tiere erhielten gleichzeitig mit der Enukleation nochmals 1000 I. E. PMS. Nur in dieser Gruppe zeigten sich 30 % Doppelovulationen.

An 515 Tieren haben in jüngster Zeit GORDON, WILLIAMS und EDWARDS (1962) diese Versuche unter praktischen Bedingungen fortgeführt. Am 16./17. Tag injizierten sie PMS in Dosen von 800, 1000, 1200, 1600 und 2000 I. E. Sieben bis vierzehn Tage nach der Brunst wurde die Mehrzahl der Tiere auf vorhandene Gelbkörper als Kriterium stattgefundener Ovulationen untersucht. Bei hoher Gelbkörperzahl mußte die Anzahl der Ovulationen geschätzt

werden. Gleichzeitig wurden die Ovarien auf große, nicht ovulierte Follikel abgetastet. Soweit die Tiere mehrere Ovulationen zeigten, wurden sie etwa sechs Wochen nach der Brunst untersucht, um die Anzahl der Embryonen und ihre Verteilung auf die beiden Uterushörner festzustellen.

Von 486 Tieren, die ausgewertet werden konnten, ovulierten 70 (=14,4%) ohne Brunsterscheinungen. Dabei scheint die sogenannte "stille Brunst" gehäuft bei Tieren mit niedriger PMS-Dosierung aufzutreten, ferner bei solchen, die viel Milch gaben bzw. mehr als drei Kälber säugten. Von 416 belegten Tieren konzipierten 317 (=76 %). Die Konzeptionsrate in den einzelnen Dosierungsgruppen ist keinen wesentlichen Schwankungen unterworfen. Auch Beziehungen zur Anzahl der Ovulationen bestanden nicht.

Dagegen war die Ovulationsrate aber von der Dosierung deutlich abhängig. Die Zahl der Ovulationen stieg von durchschnittlich 1,45 bei 800 I. E. auf 3,92 bei 2000 I. E. PMS an. Die Schwankungen betrugen bei 800 I. E. 1 bis 5, bei 2000 I. E. 1 bis 25 Ovulationen.

Bei der zweiten Rektaluntersuchung in der 6. Woche nach dem Belegen wurde die Zahl der angelegten Foeten ermittelt. Dabei mußte der hohen Verlustrate an Eizellen oder Embryonen während der frühen Trächtigkeit besondere Beachtung gewidmet werden. So hatten von allen Tieren, die mehr als eine Eizelle freisetzten, nach sechs Wochen etwa nur die Hälfte mehr als einen Foetus. Von 78 Tieren mit Doppelovulationen hatten nach sechs Wochen nur noch 32 Kühe zwei Foeten. Demgegenüber waren bei 28 Tieren, die drei Eizellen freigesetzt hatten, nach sechs Wochen zehnmal Drillinge und elfmal Zwillinge festzustellen. Der Anteil an Zwillings- und Drillingsträchtigkeiten ist also bei diesen Tieren wesentlich höher.

GORDON und Mitarb. haben in diesem Zusammenhang auf eine interessante Beziehung zum Ovulationsort, das heißt rechtem oder linkem Ovar, aufmerksam gemacht. Stammten bei Kühen mit Doppelovulationen die beiden Eizellen von dem gleichen Ovar, dann konnten bei der Trächtigkeitsuntersuchung nur in 28,6 % der Fälle auch zwei Foeten nachgewiesen werden, gegenüber 61,5%,

wenn die Ovulation auf beide Eierstöcke verteilt war. Die Entwicklung von zwei Foeten in einem Uterushorn ist also zweifellos mit einer hohen Foetensterblichkeit verbunden. Bei drei Ovulationen, wo in den meisten Fällen die Ovulationen auf beide Eierstöcke verteilt waren, und die Embryonen sich dementsprechend häufiger in beiden Uterushörnern entwickelten, war der Prozentsatz an überlebenden Zwillingen höher. Auch in dieser Untersuchung wurde festgestellt, daß eine intrauterine Eimigration, wie sie beim Schaf bei Mehrlingsträchtigkeiten die Regel ist, verhältnismäßig selten vorkommt. Ein Ausgleich bei "Überlastung" eines Hornes tritt also im allgemeinen nicht ein.

Insgesamt trugen 44 Kühe Mehrlingsgeburten aus. Davon waren 35 Zwillinge, 8 Drillinge und einmal Fünflinge. Die Höchstzahl der angelegten Früchte betrug fünf bei fünf Ovulationen. Auch bei Freisetzen von höheren Eizahlen konnten nicht mehr als vier Foeten implantiert werden. Dabei fiel auf, daß eine Reduktion auf Drillinge bei mittleren Ovulationszahlen (4 bis 6) mit gleicher Häufigkeit entstehen wie bei hohen Ovulationszahlen (7 bis 25). Es tritt also eine bemerkenswerte Reduktion auf eine Foetenzahl ein, die an der Grenze des Physiologischen liegt.

Gegenüber Drillingsgeburten, wo über große Schwierigkeiten beim Abkalben und später berichtet wurde, bestanden diese nicht in dem Maße bei Zwillingen, besonders dann nicht, wenn die Muttertiere in den letzten acht Wochen durch "zweckmässige Fütterung" vorbereitet wurden. In diesen Fällen betrug die durchschnittliche Trächtigkeitsdauer 280,6 Tage. Die Kälber wogen zwischen 59 und 89, im Mittel 73,9 lbs. Ihre Vitalität unterschied sich nach Ansicht des Autors kaum von der normaler Kälber. Nur 18,2 % der Kühe hielten die Eihäute länger als 48 Stunden zurück und beanspruchten tierärztliche Hilfe.

C. MATERIAL UND METHODIK

1. Hormonpräparate

Zur Follikelstimulation wurde als FSH-Träger das Anteron (Fa. Schering A.G., Berlin) benutzt, das aus dem Serum trächtiger Stuten (PMS) hergestellt wird. Lediglich in einem Vorversuch sind noch zwei andere Präparate, das Equoman (Fa. Mack, Illertissen) und Predalon S(Fa. Organon GmbH, München-Parsing) verwendet worden. Die Substanzen lagen in lyophilisierter Form vor, sie wurden in ein- bis zweimaliger Injektion subkutan appliziert.

Als Luteinisierungshormon (LH) standen das Choriongonadotropin Primogonyl (Fa. Schering A.G., Berlin) sowie PLH-Armour, ein Hypophysenvorderlappenextrakt, als chemisch gereinigte Präparate zur Verfügung. Auch diese lagen in lyophilisierter Form vor, ihre Anwendung erfolge intravenös.

Als Progesteron kam "freies" Progesteron der Fa. Schering, Berlin, als synthetisches Präparat in öliger Lösung zur Anwendung. Es wurde intramuskulär appliziert.

2. Versuchstiere

47 Versuchstiere waren verfügbar. Bei diesen Tieren handelt es sich um 5 Rinder und 42 Kühe aus dem Versuchstierbestand des Max-Planck-Institutes im Alter von zwei bis sieben Jahren. 40 Tiere waren schwarzbunte Niederungsrinder. Die übrigen sieben waren Kreuzungen oder reinrassige Jerseys. Sie wurden aus wirtschaftlichen bzw. versuchstechnischen Gründen am Ende der Laktation abgeschafft. Die Leistungen der Kühe lagen dementsprechend nur zwischen sechs und zehn Litern.

Die Haltung der Tiere war weitgehend gleich. Ihre Ernährung wurde von Geburt an in Einzelfütterung kontrolliert, die Vollwertigkeit der Futterrationen wurde durch Futteranalysen laufend überprüft.

Diese ausnehmend günstigen Versuchsbedingungen, die im Max-Planck-Institut gegeben waren, wirkten sich besonders bei der Beurteilung der Fertilität der Versuchstiere aus. So lagen für alle Kühe aus allen Lebensjahren Angaben über Zykluslänge, Konzeptionshäufigkeit, Abkalbung und eventuelle Sterilität vor. Danach handelt es sich bei allen Tieren um fertile Kühe mit regelmäßigen Brunstintervallen. Lediglich von den Rindern

fehlen regelmäßige Angaben über Brunstzyklen. Sämtliche Tiere wurden jedoch vor Versuchsbeginn einer klinischen Untersuchung ihrer Fortpflanzungsorgane unterzogen. Als fortpflanzungstauglich wurden die Tiere angesehen, deren letzte drei Zyklen regelmäßig abliefen. Tiere mit Fortpflanzungsstörungen konnten nicht gefunden werden.

3. Versuchsdurchführung

Die Untersuchung gliedert sich in mehrere Versuchsgruppen, die unterschiedlichen Behandlungsmethoden unterworfen waren. Einzelheiten darüber werden später im Text besprochen. Mit Ausnahme der Versuchsgruppe I wurde bei allen Tieren das Corpus luteum periodicum entfernt. Der Zeitpunkt der Enukleation lag bei den Gruppen II und III zwischen dem 10. und 16. Tag, bei der Gruppe IV zwischen dem 16. und 18. Tag. Unmittelbar nach der Enukleation wurde den Tieren der Gruppe II und III fünf bis 14 Tage lang 100 mg Progesteron einmal täglich intramuskulär verabreicht. Dabei erhielten die Tiere der Gruppe II das Progesteron über den kürzeren Zeitabschnitt von fünf bis sieben Tagen. Bei allen Tieren der Gruppe III wurde die Zeit der Progesteronverabreichung auf 14 Tage verlängert, um mit Sicherheit zyklische Einflüsse auszuschalten.

Die PMS-Präparate wurden mit Ausnahme der letzten beiden Gruppen immer in zwei aufeinanderfolgenden Fraktionen subkutan an der linken Halsseite gegeben. Die Gesamtdosen lagen zwischen 1000 und 3000 I. E.

Die Verabreichung der LH-Präparate erfolgte intravenös in ein bis zwei Gaben in die Hals- oder Milchvene. Die Dosen lagen zwischen 1000 und 4000 I. E. Der Zeitpunkt der LH-Injektion wurde nach dem Auftreten von Brunstsymptomen bestimmt.

Während der Behandlung standen die Tiere immer im Stall. Die Ermittlung und Beurteilung von Brunstsymptomen konnte deshalb durch eine vaginale und rektale Untersuchung gesichert werden. Diese Untersuchungen erfolgten von der ersten PMS-Injektion an ein- bis zweimal täglich, mit Beginn der

Brunst häufiger, in Abständen von vier bis sechs Stunden. Um einen möglichst sicheren Befund zu bekommen, wurden bei jedem Tier mindestens zwei Rektalkontrollen unter Epiduralanästhesie mit 5 bis 8 ccm 2% Tutokain durchgeführt. Es war beabsichtigt, dadurch besonders den zeitlichen Ablauf des Follikelwachstums sowie die Anzahl der heranwachsenden Follikel, deren Lage auf dem Ovar sowie ihre Ovulationen zu ermitteln.

Nach Auftreten der Brunstsymptome,als solche wurden Vaginalhyperämie, Uteruskontraktionen, Sekretion von Brunstschleim, Passierbarkeit des Zervikalkanales und das psychische Verhalten gewertet, sind die Tiere in den meisten Fällen einem Bullen ein- oder mehrmals vorgeführt worden, um zugleich auch Anhaltspunkte über die Dauer der Brunst zu bekommen. Anschließend wurden sie belegt bzw. besamt.

Die Schlachtung der Tiere erfolgte zunächst in größeren Abständen zur Behandlung, um auch Angaben über die Zahl der sich entwickelnden Embryonen zu bekommen. Später wurde dann bei den anderen Gruppen diese Zeit wesentlich verkürzt und die Tiere zwischen 36 und 84 Stunden nach dem Belegen geschlachtet. Dadurch sollte die Auswirkung der Hormonbehandlungen auf die Eierstöcke und Follikel sicher erfaßt werden. Die Ovarien wurden unmittelbar nach der Schlachtung beurteilt und alle sichtbaren Follikel gezählt, ihre Durchmesser mit der Schieblehre gemessen und die Anzahl der Ovulationsstellen und Gelbkörper notiert. Follikel mit einem Durchmesser von 1 cm und mehr wurden in Übereinstimmung mit Angaben des Schrifttums (HOEFLIGER 1948, ERNST 1956, RAJAKOSKI 1960) als ovulationsreif oder ovulationsfähig bezeichnet. Die Fixation der Eierstöcke erfolgte in 10 %iger Formalinlösung oder Stieve'scher Lösung. Nach Härtung wurden sie in verschieden starke Scheiben zerlegt, um die Zahl der äußerlich nicht sichtbaren Follikel und deren Größe zu bestimmen.

Von Follikeln verschiedener Größe und verschiedenen Alters wurden Paraffinschnitte angefertigt, die nach einer von Goldner modifizierten Trichromfärbung (Romeis 1498) auf Degenerations- und Atresieerscheinungen hin geprüft wurden.

Hatten Follikel ovuliert, wurden die Eileiter beider Körperseiten mit physiologischer Kochsalzlösung durchspült, um die Eizellen zu gewinnen und ihren Befruchtungsgrad zu prüfen. Durch Mängel in der Technik konnten anfänglich einige Eizellen nicht aufgefunden werden.

D. VERSUCHSERGEBNISSE

I. Die Ei- und Follikelzahlen bei den verschiedenen Versuchsgruppen

Wie bereits betont, bestand ein großer Vorteil dieser Untersuchung in der weitgehenden Gleichartigkeit des Tiermaterials. Dadurch konnte das Schwergewicht der Versuchsarbeit mehr auf methodische Fragen in der Hormonbehandlung gelegt werden. Die unbefriedigenden Ergebnisse bisheriger Forschungsarbeiten ließen aber keine Ansatzpunkte erkennen, von wo aus diese Untersuchungen hätten erfolgreich weitergeführt werden können.

Es schien deshalb vorteilhafter, unabhängig von früheren Arbeiten, zunächst mit eigenen Vorversuchen zu beginnen und die Art der anzuwendenden Hormonpräparate sowie ihre ungefähre Dosierung selbst zu testen. Die schnelle Kenntnis über den Behandlungserfolg durch die Beurteilung der Ovarien schon kurz nach dem Belegen hat zu mehrmaligen Abänderungen in der Versuchsmethode und zur Aufstellung verschiedener Versuchsgruppen geführt. Es wurden dabei jeweils die Erfahrungen aus der vorangegangenen Versuchsgruppe mit berücksichtigt. Als optimales Versuchsergebnis wurde angestrebt, bei einem hohen Prozentsatz der Versuchstiere die Zahl der ovulierten Eizellen pro Tier auf zwei bis drei zu erhöhen.

1. Versuchsgruppe : Vorversuche mit verschiedenen PMS-Präparaten

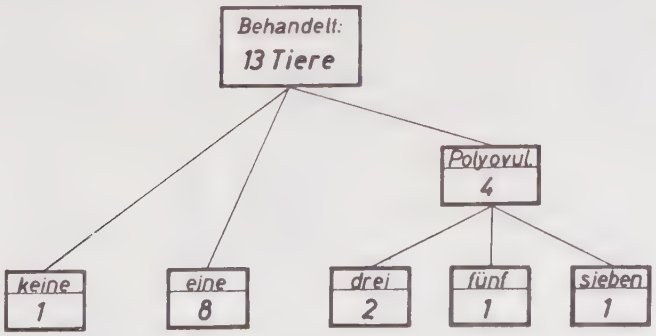
In dieser Gruppe ist an 13 Tieren ein Vorversuch mit verschiedenen PMS-Präparaten vorgenommen worden. Dadurch sollten Anhaltspunkte über die Wirkung der Präparate und über ihre erforderliche Dosierung gefunden werden. Wir folgten dabei der einfachsten Methodik ohne jegliche Vorbe-

handlung der Tiere, wie sie bereits von HAMMOND jr. und BHATTACHARYA (1944) und jüngst auch von GORDON, WILLIAMS und EDWARDS (1962) in ihrem Großversuch zur Anwendung kam. In der absteigenden Gelbkörperphase erhielten die Versuchstiere zwischen dem 15. und 18. Tag an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je eine Injektion mit insgesamt 1000 bis 1500 I. E. PMS. Neben Anteron kamen Equoman und auch Predalon S zum Einsatz. Um festzustellen, in welcher Anzahl sich Embryonen entwickelt hatten, wurden die Kühe zwischen dem 17. und 158. Tag nach dem Belegen geschlachtet.

Wie die Tabelle I zeigt, sind von 13 Tieren 12 brünstig geworden. Der Abstand zwischen letzter PMS-Behandlung und auftretender Brunst lag zwischen zwei und sechs Tagen mit einem Durchschnittswert von 4,1 Tagen. Der Abstand zur vorhergehenden Brunst betrug 19 bis 24 Tage, im Durchschnitt 21,0 Tage. Ein auffälliger Einfluß des Hormonpräparates auf den Eintritt der Brunst ließ sich nicht belegen.

Die zwölf brünstig gewordenen Tiere hatten alle ovuliert. Die Überprüfung der Eierstöcke auf vorhandene Gelbkörper zeigte, daß vier Kühe drei bis sieben, die übrigen 8 Tiere je einen Gelbkörper besaßen (Übersicht und Tabelle 1).

Ovulationen bei den Tieren der Gruppe 1



Übersicht 1

Tabelle : 1

Tier Nr.	Präparat	Zeitpunkt d. Injektion Tag d. Zykl.	Dosis PMS	Brunsteintritt nach PMS(Tage)	Zahl der Gelbkörper	Zahl der Embryonen	Zahl der Follikel 10mm	Zahl der Follikel 10mm	Abstand : Brunst-Schlachtung
1262	Anteron	17/18	2x1000	4	7	-	-	4	19 Tage
714	"	17/18	2x1000	6	1	-	1	-	17 "
1269	"	16/17	2x1000	5	3	2	-	2	150 "
946	"	15/17	2x1000	2	1	-	1	5	20 "
947	"	16/17	2x1000	3	1	1	1	5	51 "
860	"	16/17	2x1000	6	1	1	-	3	45 "
909	Anteron	17/18	1000	-	-	-	3	6	15 Tage
	Equoman		1500						nach Behandlung
983	Equoman	16/17	2x1000	3	5	4 x)	1	3	49 "
1328	"	16/17	2x1000	4	3	2	-	6	56 "
1082	"	16/17	2x1000	4	1	-	2	20	19 "
1330	"	16/17	2x1000	5	1	1	-	6	41 "
784	Predalon S	16/17	2x1000	3	1	1	-	5	158 "
1245	"	16/17	2x1000	4	1	-	1	3	20 "

x) Eine Frucht war etwa zwischen dem 25, und 30. Tag atrophiert

Durch die angewendete Behandlungsmethode hatten also nur zwei von 13 Tieren die angestrebte Zahl von zwei oder drei Eiern aufzuweisen. In zwei Fällen war es zu Polyovulationen mit fünf und sieben Eiern gekommen. Sehr hoch war der Anteil der Kühe, die nicht mit Polyovulationen reagierten, denn bei acht von 13 Tieren war jeweils nur eine Eizelle freigesetzt worden. Eine unterschiedliche Wirkung der injizierten Hormonpräparate Anteron und Equoman auf das Ovulationsergebnis ist nicht zu belegen. Predalon S ist nur in zwei Fällen angewendet worden und gestattet daher keine gegenteiligen Rückschlüsse.

In dieser Versuchsgruppe konnte auch die Zahl der zur Entwicklung gekommenen Embryonen festgestellt werden. Aus Tab. 1 ist zu ersehen, daß bei allen Tieren mit Polyovulationen eine Reduktion der Embryonenzahl eingetreten war. Die beiden Kühe Nr. 1269 und Nr. 1328, die drei Eizellen ovulierten, hatten Zwillinge implantiert. Es war anzunehmen, daß sie diese Zwillingsträchtigkeit voll ausgetragen hätten, da sie den für kritisch angesehenen Zeitpunkt der Embryonensterblichkeit zwischen der 7. bis 8. Woche überschritten hatten. Bemerkenswert ist der totale Eiverlust bei der Kuh Nr. 1262, die sieben Eizellen freigesetzt hatte. Die Kuh Nr. 983, die fünf Gelbkörper aufzuweisen hatte, wurde am 49. Tag geschlachtet. Vier Embryonen hatten sich entwickelt, die zu je zwei auf die beiden Uterushörner verteilt waren. Allerdings war eine Frucht (siehe Abb. 1) etwa zwischen dem 25. und 30. Tag abgestoßen, wie an dem noch sichtbaren atrophischen Restkörper geschätzt werden konnte.

Abbildung 1

siehe Seite 32/33

Dieser hohe Anteil nichtträchtiger Tiere ist aber nicht nur auf Kühe mit Polyovulationen beschränkt. Er ist auch bei Kühen mit nur einem Gelbkörper nachweisbar, denn von acht Tieren waren nur vier trächtig.

Wie die Untersuchung der Ovarien zeigte, hatten sich die angewendeten Hormone außerdem aber auch wahrscheinlich auf die Anzahl der nicht ovulierten Follikel auf den Eierstöcken ausgewirkt, da man sie in dieser Häufigkeit bei unbehandelten Tieren nicht findet. Nach Untersuchungen von ERNST (1956) ist zwar gerade in den ersten Trächtigkeitsmonaten eine Neubildung von Follikeln anzunehmen. Follikelzahlen in der Höhe wie im vorliegenden Material wurden von ihm jedoch nicht angegeben.

Die Eierstöcke boten ein- hinsichtlich Zahl und Größe der Follikel - recht unterschiedliches Bild. Wie aus Tab. 1 zu errechnen ist, betrug die durchschnittliche Zahl der Follikel unter 1,0 cm 5,0 pro Tier. Demgegenüber stehen nur durchschnittlich 0,8 Follikel pro Tier, die größer als 1,0 cm waren und als ovulationsreif angesehen werden können.

Die Zusammenstellung in Tab. 1 läßt weiter erkennen, daß die Zahl der kleinen wie die der großen Follikel mit steigender Ovulationsrate abnahm. Bei drei- und siebenfacher Ovulaion fehlten größere ovulationsfähige Follikel ganz und bei der fünffachen Ovulation war nur einer vorhanden. Dagegen besaßen von den acht Kühen mit einer Ovualtion fünf Tiere noch einen oder zwei ovulationsfähige Follikel.

Die meisten ovulationsreifen Follikel wurden auf den Eierstöcken jenes Tieres gefunden, bei dem keine Brunst zu beobachten war. Von den dort beobachteten drei Follikeln war einer zu einer Zyste ausgewachsen und hatte die enorme Größe von 4,1 cm aufzuweisen.

Auch in Bezug auf die Vermehrung der Follikelzahlen auf den Ovarien waren keine Unterschiede zwischen den Hormonpräparaten feststellbar. Anteron brachte im Durchschnitt 3,6 kleine und 0,6 große Follikel pro Tier. Die entsprechenden Zahlen für die Equomanbehandlung lauteten 8,8 und 0,7.

Dieser recht interessante Befund über die Vermehrung der Follikel ist jedoch mit großen Einschränkungen zu bewerten. So war der zeitliche Abstand zwischen Behandlung und Untersuchung sehr groß, so daß Rückbildungs- und Atresievorgänge oder auch Follikelneubildungen aufgetreten sein konnten. Die offensichtliche Beziehung zur Zahl der Ovulationen weist jedoch auf eine Auswirkung der Hormonbehandlung hin, die demnach sehr lange nachweisbar blieb.

Aus diesem Vorversuch konnten trotz des kleinen Tiermaterials doch einige informative Hinweise abgeleitet werden. Danach war kaum anzunehmen, daß zwischen den geprüften PMS-Präparaten wesentliche Unterschiede in ihrer Auswirkung auf das Wachstum und die Ovulation von Follikeln bestanden. Die Ovarien wurden durch die angewendeten Hormondosen zwar zur Produktion höherer Follikelzahlen angeregt, diese erreichten aber nicht das Endstadium, die Ovulation.

Dabei ist weiter hervorzuheben, daß von zwölf Kühen, die ovulierten, acht Tiere jeweils nur eine Eizelle freigesetzt hatten, obgleich sie durchweg noch einen ovulationsfähigen Follikel besaßen. Von vier Tieren, die mit Polyovulationen auf die Hormonbehandlung reagierten, hatten nur zwei Tiere die erwünschte Zahl von drei Eizellen aufzuweisen.

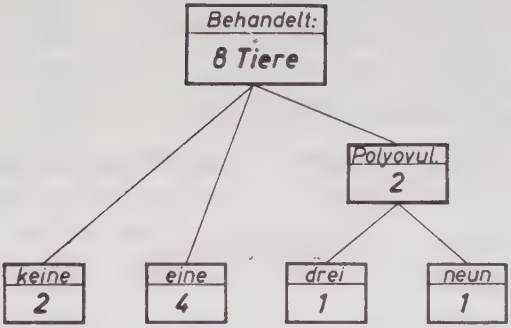
Diese unterschiedliche Reaktion der Kühe auf die gleichen Hormondosen ist ein bemerkenswerter Befund, der auch in allen bisherigen Arbeiten immer wieder herausgestellt wurde. Die Ursachen dafür sind noch unbekannt. Sie zielen jedoch auf die Annahme einer unterschiedlichen "hormonalen Ausgangslage" der einzelnen Kühe. Dabei lag die Überlegung nahe, daß sich das Corpus luteum unterschiedlich schnell zurückbildete und so einen Teil der injizierten Hormone unwirksam gemacht haben konnte. Bei der Weiterführung dieser Versuche sollte deshalb zunächst dieser Faktor ausgeschaltet werden.

2. Versuchsgruppe : Enukleation des Gelbkörpers, Vorbehandlung mit Progesteron und PMS-Applikation

Auf Grund der im Vorversuch gemachten Erfahrungen wurde für die zweite Versuchsreihe folgende Methodik zugrunde gelegt : Zur Ausschaltung der unterschiedlichen Gelbkörperaktivität sind die Kühe zwischen dem 10. und 16. Tag des Zyklus enukleiert worden. Mit einer Injektion von 100 mg Progesteron pro Tag wurde die Gelbkörperphase etwa bis zum nächstfälligen Brunsttermin künstlich fortgeführt, um so bei allen Tieren die gleiche "hormonale Ausgangslage" für die nachfolgende PMS-Behandlung zu schaffen. Aus diesem Grunde wurden auch die injizierten Progesterondosen höher gewählt, als sie in vergleichbaren Arbeiten (CHRISTIAN und CASIDA 1948, ULBERG, CHRISTIAN und CASIDA 1951, AVERY, COLE und GRAHAM 1962) zur Anwendung kamen und zwischen 20 bis 60 mg per die schwankten.
24 Stunden nach der letzten Progesterondosis wurde PMS zunächst an zwei aufeinanderfolgenden Tagen in einer Gesamtdosis von 2000 bis 3000 I. E. verabreicht. In der zweiten Hälfte des Versuches wurde dann die Dosis auf einmalig 1000 bis 1500 I. E. herabgesetzt (siehe Tab. 2). Gleichzeitig erfolgte auch eine Umstellung des Schlachttermins auf 36 bis 48 Stunden nach dem Belegen, um die Auswirkungen der Hormonbehandlung auf den Eierstock genauer beurteilen zu können.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe wurden in Tab. 2 zusammengestellt. Wie man sieht, sind alle Tiere nach ein bis drei Tagen brünstig geworden. Nur in einem Falle trat die Brunst erst nach sieben Tagen ein. Bei einem Tier, Nr. 1578, das wie alle Tiere der III. Versuchsgruppe 14 Tage lang mit Progesteron behandelt wurde, trat die Brunst ebenfalls bereits zwei Tage nach der letzten PMS-Injektion in Erscheinung. Bis auf einen Fall reagierten die Kühe also weitgehend gleichmäßig.

Ovulationen bei den Tieren der Gruppe 2



Übersicht 2

Weniger zufriedenstellend ist das Ergebnis im Hinblick auf die ausgelösten Ovulationen und Polyovulationen. Übersicht 2 und Tabelle 2 lassen erkennen, daß von acht Tieren nur sechs ovuliert hatten. Zwei zeigten Polyovulationen mit drei und neun Gelbkörpern. Vier Tiere hatten nur einmal ovuliert. Die beiden Polyovulationen traten bei der hohen Dosierung von 2000 bis 3000 I. E. auf und gaben dazu Anlaß, die PMS-Dosis zu reduzieren. Bei der niedrigen Dosis von 1000 I. E. fanden sich jedoch nur zwei einfache Ovulationen, während zwei Tiere nicht reagiert hatten. Diese Dosis schien offenbar wiederum zu gering. Embryonen wurden weder bei Tieren mit mehrfacher noch mit einfacher Ovulation gesehen.

Auch in diesem Versuch hatten sich die verwendeten Hormone auf Zahl und Größe der vorhandenen Follikel ausgewirkt. Bei den beiden Tieren der hohen Dosierungsgruppe, die mehrere Ovulationen aufwiesen, fanden sich keine weiteren ovulationsfähigen Follikel. Die zwei anderen Tiere dieser Untergruppe, die nur einmal ovuliert hatten, zeigten jedoch einen bzw. drei Follikel von mehr als 1,0 cm Durchmesser auf ihren Eierstöcken.

Tabelle : 2

Tier Nr.	Zeitpunkt der Enukleation	Dauer der Progesteroninjek. (Tage)	PMS Dosis IE	Brunsteintritt nach PMS(Tage)	Zahl der Gelbkörper	Zahl der Follikel 10mm	Zahl der Follikel 10mm	Abstand: Brunst-Schlachtung
1381	Blüte	7	2x1000	2	3	-	11	21 Tage
1382	"	7	2x1000	3	1	1	22	21 "
1388	"	6	2000 1000	7	1	3	21	29 "
2301	16. Tag	7	1000 2000	3	9	-	28	11 "
1387	Blüte	5	1000	2	-	14	4	36 Std.
1389	16. Tag	6	1000	1	1	2	3	48 "
2300	Blüte	6	1000	2	-	11	-	36 "
1578	14. Tag	14	1000 500	2	1	-	27	48 "

Bei der niedrigen Dosierung von PMS hatte nur eine der beiden Kühe, die einmal ovuliert hatten, noch zwei ovulationsfähige Follikel mit einem Durchmesser von 1,6 cm auf dem Ovar aufzuweisen. Überraschend hoch war aber die Zahl großer Follikel bei den beiden Tieren ohne Ovulation. Trotz der kleinen PMS-Dosis hatten sich 14 bzw. 11 Follikel, mit Durchmessern zwischen 1,3 und 2,6 cm entwickelt. Daraus ist abzuleiten, daß durch PMS-Gaben vermehrtes Follikelwachstum bis zur ovulationsreifen Größe nur dann nachgewiesen werden konnte, wenn später eine Ovulation ausblieb.

Etwas anders mögen die Verhältnisse bei den kleinen Follikeln liegen. Dort besteht eine offensichtliche Beziehung zur Dosierung. Bei jenen vier Tieren die mit 2000 bis 3000 I. E. PMS behandelt wurden, konnten im Durchschnitt 20,5 Follikel bis zu einer Größe von 1,0 cm auf den Ovarien gezählt werden. Die Kühe, die nur 1000 I. E. PMS erhielten, hatten durchschnittlich nur 2,3 kleine Follikel aufzuweisen. Diese Dosis war offenbar zu gering, um das Follikelwachstum im größerem Maße anzuregen.

Das mit erhöhter Dosis, 1500 I. E. in zweimaliger Injektion, behandelte Tier Nr. 1578 hatte neben einer Ovulation wiederum 27 kleine Follikel auf seinen Ovarien aufzuweisen. Allerdings kann der Befund in diesem Zusammenhang nicht weiter diskutiert werden, da dieses Tier eine Sonderstellung einnimmt. 14 Tage lang mit Progesteron behandelt war und schon zur Versuchsgruppe 3 überleitet.

Diese zweite Versuchsreihe wurde wegen ihrer unbefriedigenden Ergebnisse nicht weitergeführt. Trotz Enukleation des Corpus luteum und anschließender Progesteronbehandlung mit gleichen Dosen hatten die Kühe weiterhin unterschiedlich reagiert. Lediglich zur PMS-Dosis bestand eine Abhängigkeit. Bei hoher Dosierung von PMS war es nur in zwei Fällen zur Polyovulation gekommen, wobei einmal sogar neun Eizellen ovulierten. In keinem Falle, auch nicht bei den beiden Kühen mit nur einem Gelbkörper, hatten sich in dieser Dosierungsgruppe Eizellen zu Embryonen weiterentwickelt. Die danach neugewählte Dosis von 1000 I. E. bei einmaliger Injektion erwies sich dagegen als zu gering, weil kein Tier mit einer Polyovulation darunter war

und zwei Tiere überhaupt nicht reagiert hatten. Die günstige Hormongabe dürfte zwischen diesen beiden Dosierungen zu suchen sein. Bemerkenswert ist weiterhin der Befund, daß ovulationsfähige Follikel in größerer Anzahl vorhanden waren. Es lag daher die Annahme nahe, daß die natürliche, von der Hypophyse gebildete LH-Menge nicht ausreicht, um die Endreifung und Ovulation von mehreren Follikeln auszulösen. Möglicherweise haben auch die verhältnismäßig hohen Progesterongaben die Absonderung von LH so weit gedrosselt, daß die hormonale Steuerung der Ovulation versagte. Eine Zuführung exogenen Luteinisierungshormones zur Verbesserung der Ovulationszahlen wurde deshalb für die erfolgreiche Weiterführung der Untersuchungen für erforderlich gehalten.

3. Versuchsgruppe : Enukleation, Vorbehandlung mit Progesteron, Injektion von PMS und LH

In dieser Versuchsgruppe wurden zwei methodische Neuerungen eingeführt. Zunächst bestand die Absicht, die im vorigen Versuch beobachtete große Zahl ovulationsreifer Follikel zur Ovulation zu bringen. Nach Erfahrung verschiedener Autoren (BROCK und ROWSON 1952, WILLETT, McSHAN und MEYER 1952, HUHN 1959) ist dazu LH sowohl hypophysären als auch plazentären Ursprungs geeignet und verwendet worden. In den eigenen Untersuchungen wurde dieses Hormon als Choriongonadotropin (Primogonyl) oder als Hypophysenextrakt (PLH-Armour) intravenös in Dosen von 1000 bis 4000 I. E. bzw. 25 bis 50 mg verabreicht. Die Injektion wurde vorgenommen, sobald die ersten Follikel zu fluktuieren begannen, spätestens jedoch bei Auftreten der ersten Brunstsymptome. Fünf Tiere erhielten nach 24 Stunden eine zweite LH-Dosis, weil bis zu diesem Zeitpunkt keine Ovulationen festgestellt werden konnten.

Als zweites wurde die Progesteronbehandlung weiter ausgedehnt, und die Kühe erhielten nun über einen Zeitraum von 14 bis 16 Tagen die täglichen Progesterondosen von 100 mg. Im Gegensatz zur Methodik des vorhergehenden Versuches sollte damit erreicht werden, daß der Zeitpunkt der Brunst über-

brückt und so etwaige zyklische Eireifungsprozesse, die eine Polyovulation hätten verhindern oder beeinflussen können, mit Sicherheit unterdrückt wurden. Außerdem wurde angenommen, daß durch diese Progesteronvorbehandlung höhere Eizahlen erreicht werden konnten, weil in verschiedenen Untersuchungen (ROWSON 1952, BROCK und ROWSON 1952, NELLOR und COLE 1956) diese Beziehung zwischen Eizahlen und Progesteron bzw. einem aktiven Corpus luteum nachgewiesen wurde.

PMS bekamen diese Tiere im Anschluß an die Progesteronbehandlung an zwei aufeinanderfolgenden Tagen in täglichen Dosen von 500 und 1000 I. E. Unklarheit bestand darüber, in welcher Reihenfolge diese unterschiedlich hohen PMS-Dosen verabreicht werden sollten. Der Test an einem eineiigen Zwillingspaar (Nr. 2013 und 2014 in Tab. 3) von dem ein Tier erst die hohe Dosis, das andere erst die niedrige Dosis bekam, hat keine zufriedenstellende Information erbracht. Deshalb wurden bei den übrigen Tieren die Dosen von 500 und 1000 I. E. in wechselnder Reihenfolge gegeben. Am Ende des Versuches wurde die PMS-Dosis um 1000 I. E. erhöht, da die Ovulationsergebnisse sehr schlecht waren.

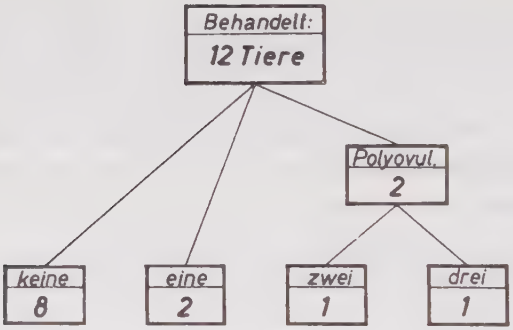
Alle Tiere sind innerhalb von 72 Stunden nach dem Belegen geschlachtet worden. Soweit Ovulationen stattgefunden hatten, sind die Eileiter mit physiologischer Kochsalzlösung durchspült und die Teilungsstadien der einzelnen Eizellen festgestellt worden.

Von den zwölf Tieren dieser Versuchsreihe hatten elf gerindert. Die Brunst trat im Durchschnitt 2,9 Tage nach der Behandlung ein. Fast alle Tiere wurden zwischen dem 2. und 4. Tag brünstig. Nur zwei Tiere hatten abweichende Zeiten aufzuweisen. Die eine Kuh wurde bereits nach einem Tag, die andere erst nach sechs Tagen nach der PMS-Injektion brünstig.

Das Ergebnis über die Ovulationen bzw. Polyovulationen war in dieser Versuchsreihe wider Erwarten sehr enttäuschend. Wie Übersicht 3 und Tabelle 3 erkennen lassen, hatten von den zwölf behandelten Tieren lediglich vier ovuliert, davon eine Kuh mit einer doppelten und eine zweite mit einer dreifachen

Ovulation. Zudem stammt die Doppelovulation von einem Tier (Nr. 1678), das schon die höhere PMS-Dosis von 2500 I. E. erhalten hatte. Unter den vier Tieren befindet sich mit einer Ovulation auch jenes Tier, das keine äußerliche Brunst zeigte und bei dem also eine "stille Brunst" mit Ovulation ablief. In den eigenen Versuchen war dieses der Fall. GORDON (1962) hat in seiner Untersuchung 14,6 % der behandelten Kühe mit " Stiller Brunst" beobachtet.

Ovulationen bei den Tieren der Gruppe 3



Übersicht 3

Diese neu aufgestellte und den "natürlichen Hormonprozessen " doch sehr nahe kommende Behandlungsmethode hatte also nicht zu dem gewünschten Erfolg geführt. Insbesondere war eine fördernde Wirkung des Progesterons und des Luteinisierungshormons auf die Zahl ovulierter Eier nicht zu erkennen.

In dieser Versuchsreihe sind erstmalig auch Eiausspülungen vorgenommen worden. Es wurden, u. U. durch technitsche Fehler, von den sieben ovulierten Eiern jedoch nur vier aufgefunden. Dabei ist hervorzuheben, daß von diesen vier Eiern nur eines befruchtet war. Dieses wurde neben einem unbefruchteten aus dem Eileiter der Kuh Nr. 1678 ausgespült. Von den drei Eizellen der Kuh Nr. 503 konnte nur ein unbefruchtetes Ei aufgefunden werden. Eine Deutung dieser Befunde ist wegen der Kleinheit des Materials nicht vertretbar.

Tabelle : 3

Tier Nr.	Zeitpunkt der Enukleation	Dauer d. Prog.-Injektion	PMS IE	LH IE bze. mg	Brunsteintritt nach PMS(Tage)	Zahl der Gelbkörper	Zahl der Follikel 10mm	Zahl der Follikel 10mm	Abstand: Brunst-Schlachtung
2013	14	14	500 1000	1000(1)	-	1	-	17	48 Std.
2014	14	14	1000 500	1000(2)	2	-	1	24	48 Std.
1154	14	14	1000 500	1000(2)	3	-	-	11	48 Std.
503	16	14	500 1000	1000(1)	1	3	1	3	48 Std.
1759	15	14	500 1000	1000(1)	2	1	4	8	48 Std.
1024	16	15	1000 500	2000(1) 1000(2)	4	-	3	9	48 Std.
1192	16	14	500 1000	25mg(2)	6	-	-	5	48 Std.
1225	16	14	1000 500	25mg(2) 25mg(3)	3	-	-	6	72 Std.
1680	16	14	500 1000	25mg(3)	3	-	-	11	48 Std.
1061	16	14	1000 500	25mg(2) 25mg(3)	4	-	2	12	48 Std.
1678	15	16	1500 2000	2000(1) 2000(2)	2	2	6	7	72 Std.
2010	13	19	1500 1000	2000(2) 2000(3)	2	-	30	2	48 Std.

Es ergeben sich jedoch Parallelen zu den Ergebnissen aus den Arbeiten von CASIDA und Mitarb. (1943), ULBERG, CHRISTIAN und CASIDA (1951), ROWSON (1952), TRIMBERGER und HANSEL (1955), die eine herabgesetzte Befruchtungsfähigkeit bei jenen Eizellen fanden, die während der Progesteronphase zur Ovulation kamen. Unsere hohen Progesterongaben hatten sich wahrscheinlich in gleicher Weise ausgewirkt.

Auch die Follikelzahlen auf den Ovarien, die sich in den vorherigen Versuchen als guter Indikator auf die Hormonbehandlungen erwiesen, zeigten in diesem Versuch eine große Variabilität. Wider Erwarten hatte sich die Anzahl großer Follikel trotz Erhöhung der PMS-Dosis von 1000 auf 1500 I. E. nicht wesentlich vermehrt. Im Durchschnitt wurden in dieser Versuchsgruppe 1,5 reife Follikel gezählt, wenn die beiden letzten Tiere, die 2500 I. E. PMS erhielten, außeracht bleiben. Bei drei Kühen (Nr. 1154, 1192, 1680) waren überhaupt keine Follikel herangewachsen oder ovuliert. Bei zwei weiteren, den eineiigen Zwillingen (Nr. 2013 und 2014), wurde nur eine Ovulation bzw. ein großer Follikel festgestellt. Diese unbefriedigende Zahl an großen Follikeln ist offenbar von der PMS-Dosis abhängig, denn bei Erhöhung der Dosis auf 2500 I. E. (Nr. 2010 und 1678) wurden wieder hohe Zahlen von 30 und 6 ermittelt. Die Follikel hatten Durchmesser zwischen 1,0 und 1,6 cm aufzuweisen. Abb. 2 zeigt ein Ovar der Kuh 1678, auf dem neben zwei Ovulationsstellen (eine sichtbar) sechs Follikel zur Ovulation herangewachsen waren (davon fünf sichtbar).

An kleinen Follikeln enthielten die Ovarien in dieser Versuchsreihe 10,6 pro Versuchstier, wenn die letzten beiden Tiere wieder unberücksichtigt gelassen werden. Ihre Zahl ist dort etwas höher, wo keine oder nur ein großer Follikel herangewachsen waren. Dagegen bestand kein Unterschied zur Herkunft der verabreichten Luteinisierungshormone. Auch deren Dosierung hatte sich nicht auf die Zahl der kleinen Follikel auf den Ovarien ausgewirkt.

Insgesamt gesehen hatte also diese Versuchsgruppe ein viel schlechteres Ergebnis gezeitigt, als die Versuchsgruppen I und II mit ihren einfachen Unter-

Abb. 1: Embryonen mit Eihäuten bei einer hormonbehandelten Kuh (Nr. 983), 49 Tage nach dem Belegen. Die linke untere Frucht ist atrophiert (←) (Aufnahme: Dr. Schilling).

Abb. 2: Ovarien der Kuh Nr. 1678.

Abb. 3: Ovarien der Kuh Nr. 1225.

suchungsmethoden. Die verlängerte Progesteronzufuhr hat das Follikelwachstum eher gehemmt als gefördert, und wahrscheinlich hatten sich die hohen Progesterondosen auch negativ auf die Ovulationsbereitschaft der Follikel ausgewirkt und die Luteinisierungshormone zum Teil unwirksam gemacht. Jedenfalls konnte weder durch LH plazentären noch hypophysären Ursprungs die Häufigkeit der Ovulationen gesteigert werden. Eine Verdoppelung der LH-Dosis blieb ebenfalls unwirksam. Es wurde in fünf Fällen im Laufe der Brunst, das heißt meist am zweiten Brunsttage, eine weitere Injektion mit LH vorgenommen, um die durch Rektalkontrolle palpierten größeren Follikel zum Platzen zu bringen. Auch diese Maßnahme blieb erfolglos.

Ganz offensichtlich war unter den gegebenen Versuchsbedingungen, vor allem unter Berücksichtigung der langen Progesteronzufuhr, die PMS-Dosierung von 1500 I. E. zu gering. Dieser Versuch, der in seiner Methodik am besten die fortpflanzungsphysiologischen Vorgänge zu berücksichten schien, hat sich ganz eindeutig als falscher Forschungsweg erwiesen, um zu dem gewünschten Untersuchungsergebnis zu kommen.

4. Versuchsgruppe : PMS-Injektionen am Anfang und Ende der zyklischen Gelbkörperphase

Die Untersuchungsergebnisse aus den Versuchsgruppen I bis III, in denen gleiche oder modifizierte Behandlungsmethoden früherer Arbeiten zur Anwendung kamen, haben also nicht den Erwartungen entsprochen. In keinem Fall war eine Steigerung von Zwillings- oder Drillingsovulationen über die bisher erreichten 30 % hinaus eingetreten. Daraus mußte gefolgert werden, daß ein Fortschritt nur dann erreicht werden konnte, wenn vollkommen neue Wege beschritten würden.

Bei den Überlegungen zur Änderung der Versuchstechnik wurde davon ausgegangen, diese den "natürlichen Entwicklungsprozessen" der Follikel anzupassen. Die bisher üblichen Methoden gehen alle von den Erfahrungen aus, daß durch Injektionen von Follikelreifungshormon das Follikelwachstum zu jeder Zeit anzuregen sei und die Follikel dann zwei bis fünf Tage nach diesen Injek-

tionen ovulieren. Es müssen jedoch ernste Zweifel angemeldet werden, ob diese "überstürzte" Follikelreifung den "natürlichen" Gegebenheiten entspricht. BROCK und ROWSON (1952) erhielten schon bessere Ovulationsergebnisse, wenn der Zeitpunkt zwischen PMS-Gabe und Brunst sieben Tage statt nur zwei betrug. Sie glaubten, daß fünf Tage Zwischenraum den günstigsten Zeitraum darstellten.

Leider ist über den Vorgang der Follikelreifung nur wenig bekannt. In jüngster Zeit hat RAJAKOSKI (1960) diese Frage beim Rind diskutiert. Nach seinen Untersuchungen ist anzunehmen, daß sich der oder die zur Ovulation kommenden Follikel zwischen dem 12. und 14. Tag nach der letzten Brunst heranbilden. Auch KÜPFER (1920) und HOEFLIGER (1948) sind der Meinung, daß der neue Graaf'sche Follikel erst in der Blüte des Corpus luteum sein eigentliches Wachstum beginnt. Demnach wäre für das Wachstum mindestens ein Zeitraum von sieben bis neun Tagen anzusetzen, somit mehrere Tage länger als bei experimentell ausgelösten Ovulationen praktiziert wurde. Auch beim Kaninchen nimmt man eine Lebensdauer von sieben bis zehn Tagen für die Graaf'schen Follikel an, die dann atresieren, wenn keine Ovulation eingetreten ist. An kleineren Säugern hat man Wachstum und Atresie der Follikel in zyklischer Abhängigkeit gefunden. Verschiedene Autoren (BOLING 1941, ENGLE 1927) sind der Meinung, daß die Follikel erst mit der Brunst heranwachsen und postöstrisch atresieren. Beim Pavian wurde Follikelwachstum am Anfang des Zyklus gesehen, das dann jeweils in der folgenden Ovulation endete (ZUCKERMANN und PARKES 1932). Auch EVANS und SWEZY (1931) stellten die Neubildungsvorgänge an den Anfang des Zyklus.

Unsere Arbeitshypothese ging nun ebenfalls davon aus, daß entgegen den Vorstellungen RAJAKOSKI's (1960) die Follikelneubildung auch beim Rind schon kurz nach der ersten Brunst stattfindet. Von diesen Follikeln verfallen dann bald die meisten der Atresie, und nur ein Follikel kommt zur Ovulation. Es wurde theoretische gefolgert, daß diese Atresie der übrigen Follikel etwa um den Beginn der Gelbkörperphase liegen müsse. Zu diesem

Zeitpunkt verabreichte unterschwellige, Brunst und Ovulation nicht auslösende FSH-Dosen mußten dann entweder die Atresie verhindern oder kurzfristig eine Neubildung von Follikeln auslösen, die dann bald das gleiche Entwicklungsstadium wie das des übriggebliebenen Follikels erreichen dürften. Mit Abklingen der Gelbkörperhormonwirkung müßten dann in diesen Follikeln sofort die "natürlichen Reifungsprozesse" einsetzen.

Auf der Grundlage dieser hypothetischen Erwägungen wurde von Dr. Schilling, Mariensee, folgender Versuchsplan aufgestellt :

Die Versuchstiere erhielten zwischen dem 4. und 6. Tag nach der Brunst eine einmalige unterschwellige Dosis von PMS in Höhe von 1000 bis 1500 I. E. Diese Menge hatte nur bei einem Tier eine schwache Brunst ausgelöst. Alle Kühe wurden zwischen dem 16. und 18. Tag enukleiert, um auch in diesem Versuch etwaige Störungen durch eine unterschiedliche Gelbkörperaktivität auszuschalten. Zeitgleich mit der Enukleation wurde eine einmalige Injektion von 2000 I. E. PMS verabreicht. Am Tage der Brunst wurden zusätzlich 4000 I. E. Luteinisierungshormon in ein- oder zweimaliger Injektion gegeben. Die Schlachtung erfolgte wieder 48 bis 84 Stunden nach dem Belegen.

Alle Tiere dieser Versuchsgruppe wurden brünstig. Die Einzeldaten in Tab. 4 zeigen, daß die Brunst in relativ engen Grenzen zwischen dem 3. und 5. Tag nach der Enukleation und PMS-Injektion aufgetreten war. Eine Beziehung zum Zeitpunkt der Enukleation ließ sich dabei nicht erkennen. Selbst bei einer Kuh (Nr. 1186), die erst am 20. Tage enukleiert wurde, trat die Brunst ebenfalls erst vier Tage später in Erscheinung. Bei einem anderen Tier (Nr. 1567) waren die Brunstsymptome nur schwach ausgeprägt; wie der spätere Ovarbefund erkennen ließ, hatte diese Kuh nicht ovuliert.

Die Zahl der ausgelösten Ovulationen ist in Übersicht 4 und Tab. 4 zusammengestellt worden. Danach hatten also von elf Versuchstieren neun Kühe ovuliert. Darunter waren vier Kühe mit je drei Ovulationen und vier mit je zwei Ovulationen , eine Kuh hatte nur eine Follikelruptur aufzuweisen. Bleibt die geringe Größe dieser Versuchsgruppe einmal unberücksichtigt, dann ist dieser Befund als ein gutes Resultat im Hinblick auf die Zielsetzung dieser Arbeit zu

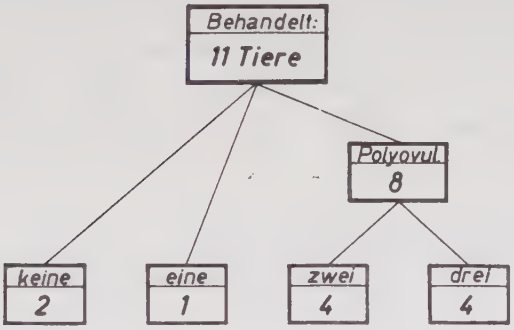
Tabelle : 4

Tier Nr.	PMS/Injekt. Tag/IE	LH IE	Brunsteintritt nach PMS	Zahl der Gelbkörper	Zahl der Follikel 10mm	Zahl der Follikel 10mm	Eizellen	Abstand : Brunst-Schlachtung
1186	4/1000 17/2500 20/2000	2000(3)[x] 2000(4)	4	3	9	4	3	48 Std.
1491	4/1500 18/2000	2000(2)	3	3	-	5	3	72 "
1519	5/1500 17/2000	4000(4)	4	3	1	2	-	84 "
1166	6/1500 18/2000	4000(3)	3	3	1	7	3	72 "
1466	5/1500 17/2000	2000(2) 2000(3)	3 3	2	-	-	2	48 "
1700	5/1500 17/2000	4000(4)	4	2	3	4	-	84 "
1289	4/1500 17/2000	4000(4)	4	2	1	2	2 (1x unbefr.)	72 "
940	4/1900 17/2000	4000(5)	5	2	-	-	2 (unbefruchtet)	48 "
1552	4/1500 16/2000	4000(3)	3	1	-	4	1	48 "
1567	5/1500 17/2000	4000(3)	3	-	4	-	-	72 "
1646	5/1500 18/2000	4000(4)	4	-	2	1	1	84 "

x) die Zahlen in der ( ) bezeichnen den Abstand der LH-Injektion von der letzten PMS-Injektion in Tagen.

werten. Über 70 % der Versuchskühe hatten mit der Freisetzung von zwei oder drei Eizellen reagiert.

Ovulationen bei den Tieren der Gruppe 4



Übersicht 4

Von allen Tieren, die ovuliert hatten, wurden Eiausspülungen vorgenommen. Von 21 ovulierten Eizellen konnten jedoch nur 16 geborgen werden. Die fehlenden fünf Eier müssen jenen beiden Tieren zugeordnet werden, die erst dreieinhalb Tage nach dem Belegen geschlachtet wurden. Mit großer Wahrscheinlichkeit waren zu diesem Zeitpunkt die Eier schon in den Uterus übergetreten, der bei diesen Tieren leider nicht ausgespült wurde. Bei der Kuh Nr. 1289, die einen halben Tag früher, am 3. Tag nach dem Belegen, zur Schlachtung kam, waren die Eizellen bereits in den oberen Abschnitt des Uterushornes eingetreten und konnten dort ausgespült werden.

Dieser Zeitpunkt des Übertritts der befruchteten Eier vom Eileiter in den Uterus nach drei Tagen ist durchaus normal, denn SCHILLING (1958) fand an Versuchskühen des Max-Planck-Instituts 72 Stunden nach der Ovulation die Eier bereits im Uterus. Es liegen deshalb in diesem Versuch keine Anzeichen für einen beschleunigten Eitransport bei multipler Ovulation vor, wie es in ähnlichen Versuchen häufiger berichtet wurde (DOWLING 1949, UMBAUGH

1949, ROWSON 1951).

Die hohe Befruchtungsrate der ausgespülten Eizellen unterstreicht das gute Untersuchungsergebnis dieser 4. Versuchsgruppe noch mehr. Von den 16 Eizellen waren zwar drei nicht befruchtet worden; zwei unbefruchtete Eizellen wurden jedoch von einer Kuh (Nr. 940) gewonnen, die nach der Schlachtung leukotische Veränderungen am Uterus mit einer großen Menge an Exsudat aufwies, was zweifellos die Befruchtung verhinderte. Diese Leukose war bei den anfänglichen Fruchtbarkeitsuntersuchungen übersehen worden. Es wären dann also von 14 Eiern nur eines unbefruchtet geblieben. Diese Eizelle wurde neben einer befruchteten aus dem Uterushorn der Kuh Nr. 1289 ausgespült, die zweimal ovuliert hatte.

Die in dieser Versuchsgruppe verabreichten Hormone hatten sich nicht nur vorteilhaft auf die Zahl der Ovulationen ausgewirkt, sondern hatten auch das Wachstum der übrigen Follikel viel weniger stark als in den vorangegangenen Versuchen beeinflußt. Wie die Tab. 4 zeigt, war mit Ausnahme der Kuh Nr. 1186 die Zahl der großen ovulationsreifen Follikel sehr gering. Bei zwei Drittel der Versuchstiere waren gar keine oder nur ein Follikel aufzufinden, in einem Falle wurden drei beobachtet. Vier und zwei Follikel, in der beabsichtigten Größe von 1,4 bis 2,2 cm,befanden sich auf den Ovarien der beiden Kühe, die nicht ovuliert hatten.

Auch die Zahl der kleinen Follikel, die alle in die Größenordnung 0,5 cm und kleiner einzuordnen sind, war außerordentlich niedrig. Die Durchschnittszahl betrug 2,8 pro Tier gegenüber den höheren Durchschnittszahlen und der größeren Variabilität, wie sie in den beiden vorhergehenden Versuchsgruppen ermittelt wurden.

Einen Sonderfall stellt die Kuh Nr. 1186 dar. Dieses Tier erhielt am 17. Tag eine PMS-Injektion in Höhe von 2500 I. E. , ohne daß enukleiert wurde. Als sich am 20. Tag noch keine Anzeichen beginnender Brunst zeigten und auch die rektale Kontrolle keine registrierbaren Veränderungen an den Ovarien erkennen ließen, wurde der Gelbkörper entfernt. Gleichzeitig erhielt die Kuh weitere 2000 I. E. PMS. Wie auf Tab. 4 ersichtlich, trat die Brunst drei Tage

nach dieser zweiten Injektion ein. Bei diesem Tier hatten sich durch die hohe PMS-Dosis außer drei Ovulationen noch neun große Follikel zwischen 1,2 und 1,5 cm herausgebildet, die wahrscheinlich erst durch die zweite Injektion zu verstärktem Wachstum angeregt wurden.

Eine ausführliche, physiologische Deutung der Untersuchungsbefunde in dieser Versuchsgruppe kann vorerst nicht erfolgen. Es steht jedoch außer Zweifel, daß sich die am Anfang der Gelbkörperphase verabreichte "unterschwellige" PMS-Dosis in günstiger Weise auf das Follikelwachstum auswirkte und dadurch vermutlich eine größere Zahl von Follikeln in den "natürlichen" Reifungsprozess einbezogen wird. Durch die zweite PMS-Dosis, die nach Ausschaltung des Gelbkörpers am 17./18. Tag injiziert wurde, sind diese Follikel dann zur Endreife und Ovulation gebracht worden. Die Frage, ob dazu das verabreichte Luteinisierungshormon erforderlich war, läßt sich noch nicht beantworten. Auf eine Nachprüfung und Änderung der Versuchsmethodik wurde in dieser Versuchsreihe verzichtet.

Demgegenüber wurde an drei Kühen aber noch getestet, ob der am Anfang der Gelbkörperphase verabreichten PMS-Dosis tatsächlich die entscheidende Bedeutung für den Untersuchungsbefund zukommt. Dazu sind drei Versuchskühe in gleicher Weise wie die Tiere aus der 4. Versuchsgruppe behandelt worden; sie erhielten die erste PMS-Dosis jedoch nicht. Aus Tab. 5 ist zu ersehen, daß die Kühe schon zwei bis drei Tage nach der Enukleation und PMS-Dosis brünstig wurden. Nur ein Tier hatte drei Ovulationen gebracht, die beiden anderen nur einmal ovuliert. Sämtliche Eizellen waren befruchtet. Auffällig ist jedoch wieder die hohe Zahl an großen und kleinen Follikeln, die als Reaktion der "überstürzten" Eireifungsprozesse anzusehen sind.

Tabelle : 5

Tier Nr.	Zeitp. d. Enukleation	PMS IE	LH IE	Brunsteintr. n. PMS(Tge)	Zahl der Gelbkörper	Zahl der Follikel 10mm	Zahl der Follikel 10mm	Eizellen
450	18	2500	4000(3)	3	3	16	-	3
1571	17	2500	4000(3)	3	1	-	10	1
698	18	2000	4000(2)	2	1	4	6	1

Auch für alle bisherigen Untersuchungen, in denen gleichfalls ein schnelles Follikelwachstum ausgelöst wurde, waren die Reaktionen ebenfalls sehr unterschiedlich. Eine Vereinheitlichung bzw. Standardisierung der Untersuchungsbefunde wird auf diesem methodischen Weg wohl nicht zu erreichen sein.

Die Ergebnisse der 4. Versuchsgruppe stellen eine erfolgsversprechende Basis für die Weiterführung der Versuche dar. Die Methode ist an einem größeren Tiermaterial zu prüfen und unter Umständen zu modifizieren. Insbesondere gilt das wahrscheinlich für den Zeitpunkt und die Dosis der ersten PMS-Injektion. In diesem Zusammenhang muß - ohne zunächst eine eingehende Erklärung dafür zu geben - auf die folgende Beobachtung hingewiesen werden. Eine rektale Untersuchung aller Tiere der 4. Versuchsgruppe am 7./8. Tag des Zyklus, also zwei bis vier Tage nach der ersten PMS-Injektion hat gezeigt, daß auf den Ovarien Follikel bis Erbsengröße herangewachsen waren, ohne deren Zahl genau bestimmen zu können. Bei vier Tieren (Nr. 1552, 1289, 1519 und 1700) wurden aber zum Zeitpunkt der Enukleation

am 17./18. Tag durch Rektalkontrolle je ein Follikel zwischen Kirsch- und Hühnereigröße auf den Ovarien festgestellt. Da sie auf dem gleichen Ovar wie die Gelbkörper lagen, platzten sie bei der Enukleation ohne zu luteinisieren. Bei der Schlachtung, also fünf bis sieben Tage später, waren nur noch Narben aufzufinden. Es ist möglich, daß es sich hierbei um den "normalen" Follikel gehandelt hat, der durch die Hormoninjektion schon in der Mitte des Zyklus zur ovulationsbereiten Größe herangewachsen war. In späteren Untersuchungen ist jedoch diesem Befund besondere Aufmerksamkeit zu widmen.

II. Beobachtungen über die Brunst und Kontrolle der Eierstocktätigkeit mittels rektaler Untersuchung

In diesem Abschnitt soll über Beobachtungen im Zusammenhang mit der Brunst und rektaler Ovarkontrolle berichtet werden, weil diese für eine Beurteilung des Gesamtproblems, besonders im Hinblick auf eine praktische Anwendung, von großem Interesse sind. GORDON und Mitarb. (1962) benutzten die Rektalkontrolle zu möglichst früher Feststellung von eingetretenen Polyovulationen. Sie prüften ferner die Möglichkeit einer Reduktion von Foeten mittels manueller Zerstörung der Fruchthüllen. Ihre Ermittlungen über die Brunsterscheinungen der Versuchstiere liessen einen hohen Prozentsatz stillbrünstiger Tiere erkennen.

1. Brunsterscheinungen bei den hormonbehandelten Kühen

Nach den Angaben der Lehrbücher (COLE und CUPPS 1939, GOETZE 1949, LLOYD 1959 u.a.) wird als Brunst derjenige Zeitabschnitt des Zyklus angesehen, in dem die Kuh beim Vorführen vor dem Bullen "steht". Alle übrigen Symptome, wie Unruhe, Brüllen, Vaginalhyperämie, Absonderung von Brunstschleim, Öffnung des Zervikalkanals und Kontraktionsbereitschaft des Uterus sollen dagegen als Merkmale zu unsicher sein, vor allem, wenn man die zeitliche Ausdehnung der Brunst bestimmen will. Verschiedentlich sollen die Tiere diese Symptome bereits zwölf Stunden vor der Paarungsbereitschaft zeigen, während sie bei anderen erst kurz davor auftreten. In den eigenen Untersuchungen war es aus technischen Gründen nicht möglich, die Kühe während der Brunstperiode mehrmals dem Bullen vorzuführen und die Festlegung der Brunstdauer durch die Paarungsbereitschaft zu begrenzen. Deshalb erfolgte eine Beurteilung der Brunst durch die Symptome : Vaginalhyperämie, Absonderung von Brunstschleim, Öffnung des Zervikalkanales und Kontraktionsbereitschaft der Uterushörner. In der Versuchsgruppe I wurden diese Ermittlungen nicht angestellt.

Besonders auffällig waren Abweichungen vom normalen Brunstgeschehen bei den Versuchsgruppen II und III. Dabei hatten die in diesen beiden Gruppen verabreichten Progesterongaben offenbar einen protrahierenden Einfluß auf die Brunstsymptome ausgeübt. Das gesamte Brunstgeschehen verhielt sich bei beiden Gruppen, die 5 bis 16 Tage lang Progesteron erhielten, weitgehend ähnlich. Im Schnitt trat die Brunst in Gruppe II 2,75, in Gruppe III 2,19 Tage nach der letzten Progesteroninjektion auf. Gemeinsam war den 20 Tieren der beiden Gruppen auch die geringe Ausprägung der psychischen Brunstsymptome. Bis auf wenige Ausnahmen mußte die Brunst durch den Bullen festgestellt werden. Hyperämie und Oedematisierung der Vaginalschleimhaut sowie Kontraktionsbereitschaft der Uterushörner waren bereits bei der letzten Progesteroninjektion festzustellen. Sie klangen erst 24 bis 48 Stunden nach der Brunst ab, hielten also drei bis sechs,in einem Falle sogar acht Tage lang an. Brunstschleim zeigte sich schon wenige Stunden nach der Paarungsbereitschaft und

war 48 bis 60 Stunden nachweisbar. Bei einem Tier, das erst am 7. Tage "stand", war Brunstschleim vom 4. bis 8. Tag festzustellen. Der Zervikalkanal öffnete sich gleichzeitig mit dem Erscheinen des Brunstschleimes und blieb drei bis vier Tage passierbar. Auch damit dürfte bewiesen sein, daß die Brunstsymptome bei allen Tieren wesentlich verlängert waren.

Zwei Tiere der Gruppe II zeigten jedoch ein abweichendes Verhalten, indem sie überhaupt keinen Brunstschleim absonderten. Die gleiche Erscheinung fanden wir bei vier Tieren der Gruppe III. Diese Tiere erhielten jedoch zusätzlich zum Progesteron noch LH und zwar zu einem Zeitpunkt, wo schon ovulationsbereite Follikel auf dem Ovar nachgewiesen werden konnten, Brunstsymptome jedoch noch nicht vorhanden waren. Es läßt sich also noch nicht klar entscheiden, wodurch das Ausbleiben der Schleimsekretion entstanden war.

Offenbar wirkte sich neben dem Gelbkörperhormon auch das Luteinisierungshormon auf die Brunstsymptome der Versuchstiere aus. Bei drei von den obengenannten vier Tieren der Versuchsgruppe III trat die Brunst erst zwei bis vier Tage nach der LH-Injektion, also offenbar mit Verspätung ein, während sie bei einem Tier ausblieb. Es hat ferner den Anschein, daß die fehlende Schleimabsonderung vielleicht auf die Wirkung des zu früh gegebenen LH's zurückzuführen ist. Dagegen scheint die brunstverzögernde und die brunstunterdrückende Wirkung des frühzeitig applizierten LH sicher zu sein.

Faßt man die Beobachtungen aus den Gruppen II und III zusammen, so läßt sich ein protrahierender Einfluß der Progesteronbehandlung unabhängig von der Dauer der Applikation, auf den Verlauf der genannten Brunstsymptome klar erkennen. Eine sekretionshemmende Wirkung des Progesteron ist möglich. Für den Eintritt der Brunst ist Progesteron wahrscheinlich nicht von Einfluß. LH scheint in der Lage zu sein, die Brunst zu unterdrücken oder ihre Symptome abzuschwächen, wenn es zu früh gegeben wird. Nach Auftreten der ersten Brunstsymptome verabreicht, beeinflußt es den Ablauf der Brunst nicht, wie die Befunde in der Gruppe IV vermuten lassen.

Diese Versuchsgruppe bekam kein Progesteron. LH wurde nach Auftreten der ersten Brunstsymptome gegeben. Bei diesen Tieren trat die der Enukleation und PMS - Injektion am 17. Tage folgende Brunst durchschnittlich nach 3,9 Tagen ein. Sie verlief weitgehend normal. Vaginalhyperämie und -oedem waren nicht früher als 24 Stunden vor dem Belegen zu beobachten. Schleimsekretion und Zervixöffnung traten erst an dem Tage auf, an dem die Kühe belegt wurden. Die Zervixöffnung hielt bis zu 24 Stunden nach dem Belegen an. Lediglich die Tiere Nr. 940 und 540 zeigten ein etwas abweichendes Verhalten. Bei diesen trat eine Vaginalhyperämie bereits nach der PMS-Injektion auf. Die Schleimsekretion begann etwas vor Eintritt der Paarungswilligkeit, während der Zervikalkanal von der PMS-Behandlung an bis zur Schlachtung passierbar war. Nr. 940 zeigte nach dem Schlachten eine Uterusleukose mit Wandgeschwülsten bis Faustgröße, Kuh Nr. 450 hatte vom letzten Kalben her einen nicht vernähten Dammriss. Dadurch gelangten ständig Kotmassen in die Vagina und verursachten dort eine chronische Entzündung.

Bei den Tieren der Gruppe I, die wie jene der Gruppe IV weder Progesteron noch LH bekamen, waren die Brunsterscheinungen ebenfalls ohne Besonderheiten abgelaufen. Hier trat die Brunst durchschnittlich 4,0 Tage nach der letzten PMS - Injektion ein. Aus dem Verhalten von zwei Tieren dieser Gruppe läßt sich jedoch vermuten, wie sich eine mehrmalige PMS-Behandlung auswirkt. Diese Tiere wurden wegen unterbliebener Konzeption drei- bis viermal mit PMS behandelt. Sie rinderten nach den jeweiligen Behandlungen im Abstand von zwei bis vier Tagen. Nur in ei nem Falle dauerte es 32 Tage bis zur nächsten Brunst. Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß eine Brunst übersehen wurde. Eines von diesen Tieren rinderte zwölf Tage nach einer Behandlung. Wie eine spätere Trächtigkeitsuntersuchung zeigte, war es zu diesem Zeitpunkt bereits tragend. Es wurde nach 16 Tagen wieder behandelt und rinderte drei Tage darauf, also mit einem normalen Brunstintervall von 19 Tagen, trotz bereits stattgefundener Konzeption. Die Behandlung hatte also auch keinen nachteiligen Einfluß auf die Trächtigkeit. In den eigenen Versuchen

wurde damit ebenfalls daraufhingewiesen, das PMS auch nach wiederholter Verabreichung das Brunstgeschehen wahrscheinlich nicht in Richtung auf einen pathologischen Ablauf beeinflußt. Damit finden die gleichlautenden Beobachtungen anderer Untersucher an Schafen (ROBINSON 1951, GORDON 1958, HARING und Mitarb. 1961) und Rindern (GORDON 1962) die Bestätigung.

2. Rektale Untersuchung der Ovarien

Es war beabsichtigt, mit Hilfe der Rektaluntersuchung das Endwachstum der Follikel vor und während der Brunst zu kontrollieren und danach das Luteinisierungshormon so einzusetzen, daß dann mehrere Follikel zur Ovulation kommen sollten. Diese Untersuchungen wurden von der 3. Versuchsgruppe an systematisch durchgeführt. Zunächst wurde von der PMS -Injektion an drei- bis viermal am Tag untersucht. Als sich dann aber bald zeigte, daß registrierbare Veränderungen erst mit Beginn der Brunst eintraten, wurde die Methode modifiziert, indem bis zum Eintreten der Brunst ein- bis zweimal täglich und erst während der Brunst drei- bis viermal am Tag untersucht wurde. Soweit Darmkontraktionen hinderlich waren, wurde unter Epiduralanästhesie gearbeitet. Die vermutliche Anzahl der Follikel sowie ihre Lage und Größenveränderungen wurden notiert.

Nach Angaben des Schrifttums wird LH bereits zu Beginn der Brunst wirksam und die sogenannte präovulatorische Schwellung des Follikels während der Brunst bereits als eine Wirkung dieses Hormones angesehen. Daher wurde zunächst versucht, das Luteinisierungshormon möglichst kurz vor dem Auftreten der ersten Brunst zu geben. Die Injektionen wurden zu einem Zeitpunkt vorgenommen, als die ersten Follikel zu fluktuieren begannen. Von den vier auf diese Art behandelten Tieren rinderten drei nach vier bzw. sechs Tagen, also offenbar sehr spät. Ein Tier zeigte keine Brunst, obwohl am 3. Tag nach der PMS-Behandlung eine Blutung auftrat. Bei allen vier Tieren wurde kein Brunstschleim beobachtet. Wie vorstehend bereits diskutiert, muß man annehmen, daß die LH-Dosis zu früh gegeben und dadurch die Brunst unterdrückt

oder, bei Abschwächung der Symptome, hinausgezögert wurde. Bemerkenswert ist, daß bei allen vier Tieren etwa 12 Stunden nach der Injektion ein enormes Anschwellen der Ovarien festgestellt wurde, worüber auch UMBAUGH 1949 berichtete. Die übrigen acht Tiere der Versuchsgruppe 3 erhielten die LH -Dosis erst, als sich die ersten Brunstsymptome zeigten. Auch hierbei trat eine starke Hypertrophie der Ovarien nach ca. 12 Stunden auf. Der Brunstablauf hingegen schien nicht gestört. Selbst bei den fünf Tieren, die eine zweite LH-Dosis am 2. Brunsttage erhielten, schien die Brunst nicht beeinflußt. Daß die LH-Gaben das Ovulationsergebnis in dieser Versuchsgruppe nicht verbesserten, mag an dieser Stelle nochmals betont werden.

In der 4. Versuchsgruppe wurden die LH-Injektionen deshalb immer erst nach Eintritt der Brunst verabreicht. Die Veränderungen in der Größe des Ovars waren zeitgleich mit jenen der entsprechenden Tiere der vorhergehenden Gruppe. Auf das Vorhandensein sehr großer Follikel zum Zeitpunkt der Ovulation am 17./18. Tag wurde bereits hingewiesen.

Anfänglich - und im Hinblick auf GORDON's Untersuchungen - wurde gehofft, daß es mit Hilfe der Rektaluntersuchungen möglich sein müsse, Anzahl und Lage der einzelnen Follikel festzustellen und ihr Wachstum zu verfolgen. Unsere Erfahrungen haben gelehrt, daß dies nur unter sehr großen Schwierigkeiten und mit großen Fehlern im Untersuchungsergebnis möglich ist. Das betrifft nicht nur die schwer palbierbaren kleinen Follikel ($< 1,0$), die sich meist nur wenig über die Eierstockoberfläche erheben, sondern auch die Ermittlung großer Follikel wird dann sehr unsicher, wenn diese zu mehreren zu finden sind. Zudem machte sich dabei die starke Ovarhypertrophie nach LH-Gaben störend bemerkbar. Nur in acht von 26 Fällen stimmten Rektalbefund und Schlachtbefund überein. Das in Abb. 3(S. 32/33) gezeigte Ovar vermag ebenso wie das in Abb. 2 dargestellte. die Schwierigkeiten exakter Rektalbefunde wohl am besten zu veranschaulichen. Eine Abgrenzung einzelner Follikel ist daher wohl kaum mit der nötigen Sicherheit möglich. Schließlich war es auch noch schwierig, selbst die stattgefundenen Ovulationen aufzufinden und zu zählen. Zwischen den meist zahlreichen nicht ovulierten Follikeln waren die flachen

Ovulationsgruben oft nur schwer zu palpieren.

Die Rektaluntersuchung wird nach unserer Meinung deshalb wohl niemals mit der erforderlichen Zuverlässigkeit eine frühe Feststellung von Follikelzahlen oder Ovulationen gestatten. Für eine Palpation der Corpora lutea mögen dagegen die Verhältnisse günstiger liegen, sofern auf die Erfahrungen von GORDON und Mitarb. (1962) Bezug genommen wird.

III. Histologische Untersuchungen der Follikel

Ursprünglich war beachsichtigt, durch histologische Untersuchungen nachzuprüfen, ob und inwieweit die Hormonbehandlungen zu Störungen des Eireifungsprozesses führten. Durch Änderungen der Versuchsmethodik, vor allem durch die Verlegung des Schlachttermines auf einen früheren Zeitpunkt, der wenige Tage nach der Hormonbehandlung lag, standen nur wenige Eierstöcke zur Verfügung, die für derartige Untersuchungen geeignet gewesen wären. Wie bekannt, setzen Atresievorgänge an nicht ovulierten Follikeln im allgemeinen erst etwas später ein.

Bei den Tieren der Versuchsgruppen III und IV konnte lediglich nachgeprüft werden, wie sich jene hohen Dosen des verabreichten LH auf die nicht geplatzten Follikel ausgewirkt hatten. Dabei war zu klären, ob diese luteinisiert oder, wenn verändert, normal atresiert waren. Allerdings soll nach Angaben verschiedener Untersucher (KUEPFER 1920, HOEFLIGER 1948) manchmal auch schon am ovulationsbereiten Follikel Gelbkörpergewebe nachweisbar sein, obgleich RAJAKOSKI's Befunde(1960) dem widersprechen.

Von fünf Versuchstieren, die mit Progesteron und LH behandelt waren, wurde je ein Ovarabschnitt mit mehreren Follikeln verschiedenr Größe untersucht. Für alle Follikel aus dieser Versuchsgruppe war die starke Durchblutung in der Theca interna typisch, wie sie an sich auch immer bei der beginnenden Gelbkörperbildung festgestellt wird. Lediglich bei einem von fünf Tieren wurden an zwei Follikeln in der Theca einige Luteinzellen festgestellt (siehe Abb. 4) obgleich diese Tiere etwa vier Tage nach der LH-Injektion geschlachtet

wurden. Die Granulosa begann aber an einigen Stellen schon zu degenerieren, und der Zellverband war dort stark aufgelockert (siehe Abb. 5). Es ist deshalb kaum anzunehmen, daß dieser Follikel ganz luteinisiert wäre. Die Follikel der anderen Tiere zeigten lediglich Störungen im Granulosaverband. Sie wären wahrscheinlich einer normalen Atresie anheimgefallen, so daß auch vom histologischen Bild her auf "normale Rückbildungsvorgänge" bei diesen Hormonbehandlungen geschlossen werden könnte.

Die Tiere der Versuchsgruppe I wurden dagegen in einem zu großen zeitlichen Abstand zur Hormonbehandlung geschlachtet. Es konnte deshalb kaum entschieden werden, ob die beobachtete größere Follikelzahl auf die Behandlung zurückging oder ob im Laufe der Trächtigkeit Follikel neu entstanden waren. Nach Untersuchungen von ERNST (1956) soll gerade am Anfang der Trächtigkeit das Follikelwachstum weitergehen.

Der Autor fand in 43 % der untersuchten Kühe in den ersten Trächtigkeitsmonaten einen oder mehrere Follikel verschiedener Größe auf den Ovarien. Es konnte daher in den eigenen histologischen Untersuchungen geprüft werden, ob die großen Follikel Merkmale pathologischer Umbildungen in Form zystöser Degeneration aufzuweisen hatten.

Von acht Tieren, die am 17. bis 51. Tag nach der Behandlung geschlachtet wurden, sind große Follikel histologisch untersucht worden Bei jenen sieben Tieren, die auf ihren Ovarien neben den Follikeln noch Gelbkörper enthielten, wurde nur ein einziger Follikel mit Merkmalen einer zystösen Degeneration festgestellt. Granulosazellen waren nur noch als einschichtige, stark abgeflachte innere Lage nachweisbar. Auch die Theca war abgeflacht und stellenweise durch starke Bindegewebseinlagerung gekennzeichnet (Abb. 6 und 7). Eine abgeschlossene Zystenbildung mit durchgehender Bindegewebshülle wurde dagegen bei einem Tier (Nr. 909, Tab. 1 b) gefunden, das nach der PMS-Behandlung nicht in Brunst kam. Es ist nicht ausgeschlossen, daß diese Follikelzyste schon vor der Behandlung bestand, da eine Rektaluntersuchung bei den Kühen dieser Versuchsgruppe nicht vorgenommen wurde. Alle anderen Follikel zeigten verschiedene Stadien normaler Rückbildungs-

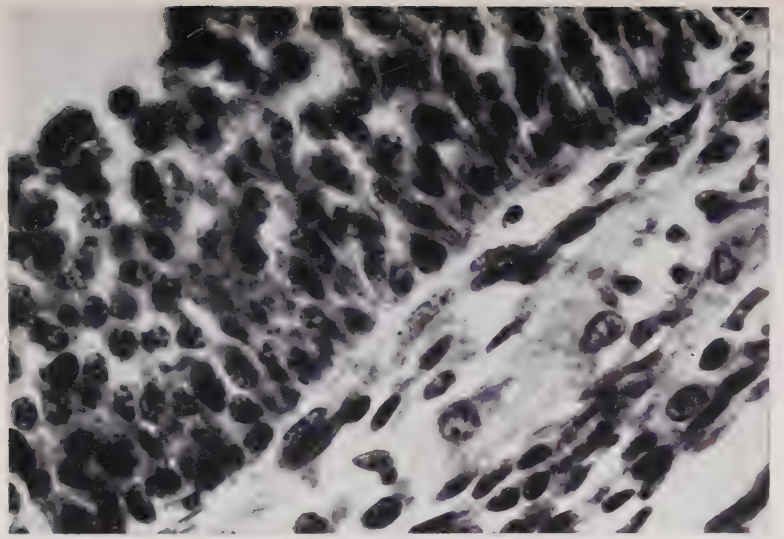


Abb. 4: Kuh Nr. 1678. Luteinzellen in der Theca interna — geschlossene Granulosa von einem Follikel mit 1,5 cm Durchmesser. 3 Tage nach der Brunst geschlachtet. Behandlung: Enukleiert 15. Tag; 16 Tage mit 100 mg Progesteron/Tag, 1500 und 1000 I. E. PMS, 2 x 1000 LH.

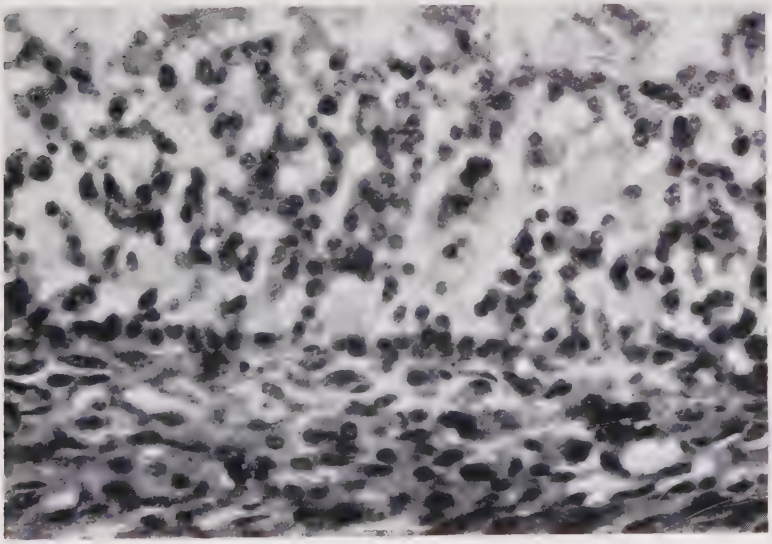


Abb. 5: Aufgelockerter, atresierender Granulosaverband in einem nicht ovulierten Follikel. Weitere Angaben siehe Abb. 4.

Abb. 6: Degenerierter Follikel (10 mm) von der Kuh Nr. 1330, 41 Tage nach der Brunst geschlachtet.

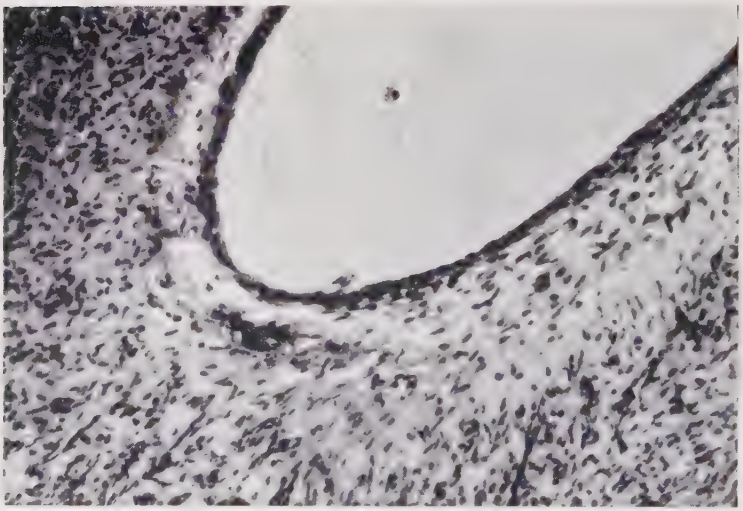


Abb. 7: Follikel (5 mm) mit Degeneration der Granulosa und Theca interna. Einlagerung von Bindegewebe. 29 Tage nach der Brunst geschlachtet.

vorgänge, so daß auch von diesem Untersuchungsmaterial her nicht auf pathologische Veränderungen an Follikeln geschlossen werden konnte. Die Beobachtungen anderer Autoren über das Fehlen pathologischer Erscheinungen nach den praktizierten Hormonbehandlungen finden demnach auch durch diese histologischen Befunde weitere Unterstützung.

E. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

In dieser Studie ist eine Methode entwickelt worden, die möglicherweise einen geeigneten Weg zur Gewinnung von zwei oder drei Eizellen beim Rind darstellt. Damit wäre die wichtigste Voraussetzung zur Erzeugung von Zwillingsgeburten geschaffen. Die bisher von anderen Untersuchern praktizierten Verfahren zur Gewinnung begrenzter Eizahlen, die in dieser Arbeit direkt oder in abgewandelter Form ebenfalls geprüft wurden, gaben dagegen nur wenig Aussicht auf den gleichen Erfolg. Unter diesen Verfahren wurden in dieser Arbeit die besten Ergebnisse noch mit der relativ einfachsten Methode erhalten, die in einer ein- bis zweimaligen Injektion von PMS drei bis vier Tage vor der zu erwartenden Brunst bestand. Auf diese Weise konnten, wie auch in den Arbeiten früherer Untersucher (HAMMOND und BHATTACHARYA 1944, HAMMOND und Mitarb. 1949, GORDON 1962), bei etwa 30 % der Versuchstiere multiple Ovulationen mit zwei und drei Eizellen ausgelöst werden.

Das jetzt erarbeitete neue Verfahren, mit dem es gelang, bei 8 von 11 Versuchstieren je zwei oder drei Follikel zur Ovulation zu bringen, ging von der physiologischen Voraussetzung aus, das Follikelwachstum seinen natürlichen Reifungsperioden entsprechend zu stimulieren. Trotz verschiedener Untersuchungen besteht bis heute noch keine Klarheit über den zeitlichen Ablauf der Follikelreifung im Rinderovar. Unsere Arbeitshypothese ging jedenfalls davon aus, daß die Follikelreifung schon am Anfang eines Zyklus beginnen müsse. Durch zusätzlich verabreichtes Follikelreifungshormon in dieser Zyklusphase müßte dann mehr als ein Follikel in jenen Reifungsprozess hineinkommen, der bei der nächsten Brunst mit der Ovulation abschließt.

Die guten Ovulationsergebnisse in der 4. Versuchsgruppe scheinen diese Vorstellung zu bestätigen. Bei jenen Methoden, die auf eine "überstürzte Follikelreifung" und kurzzeitige Ovulation nach der PMS-Injektion abzielten, waren im vorliegenden Versuch, wie auch in den vergleichbaren Arbeiten anderer Untersucher, die Ovulationsergebnisse nicht zufriedenstellend und die Eizahlen außerordentlich schwankend.

Bei den Versuchstieren der Gruppe 4, die nach dem neuen Verfahren behandelt wurden, waren auf den Ovarien außer den zwei oder drei herangewachsenen oder ovulierten Follikeln kaum noch weitere ovulationsreife Follikel zu sehen. Auch die Zahl kleiner Follikel (kleiner als 5 mm - die Größenordnung zwischen 5 bis 1 mm fehlte ganz) war sehr viel kleiner, als sie in den vorhergehenden Versuchsgruppen festgestellt wurde. Dieser Befund weist ebenfalls auf eine weit gehende "normale" Auswirkung des verabreichten PMS auf den Eierstock hin. Es behielten dabei auch die Eizellen ihre volle Befruchtungsfähigkeit, wie an den ausgespülten Eiern festgestellt werden konnte. Bei Anwendung anderer Untersuchungsmethoden, besonders bei Behandlung mit Progesteron, war die Fertilität der Eizellen herabgesetzt.

Als Follikelreifungshormon ist in diesem Versuch das PMS (Anteron) bei subkutaner Injektion mit Erfolg eingesetzt worden. Die geringen Ovulationsergebnisse in den anderen Versuchsgruppen sind sicherlich nicht dem PMS als solchem zuzuschreiben. Ein Testversuch ließ vermuten, daß zwischen den handelsüblichen PMS-Präparaten wahrscheinlich kein Unterschied in der Wirkung besteht. Von besonderer Wichtigkeit auf das Follikelwachstum und die Ovulation ist aber die Dosierung. Die im vorliegenden Versuch injizierten Dosen waren mit 1500 bis 2000 I. E. höher, als sie von GORDON (1962) mit ca. 1000 I. E. für eine Ovulation von durchschnittlich zwei Eizellen als optimal angesehen werden. Es ist deshalb verfrüht, wie es HAMMOND (1962) tut, für die Praxis Dosierungen zu empfehlen. Dem stellen sich allein schon die individuellen Reaktionen der Tiere entgegen. Die optimale Hormondosis muß auch für unsere Versuchsmethodik in weiteren Versuchen nachgeprüft werden. Insbesondere betrifft das jene, am Anfang des Zyklus

gegebene erste Hormondosis, sowie deren günstigsten Injektionszeitpunkt.

Weiter ist zu diskutieren und in späteren Untersuchungen ebenfalls zu prüfen, welche Bedeutung der Verabreichung von zusätzlichem Luteinisierungshormon für das Ovulationsergebnis zukommt. In der 4. Versuchsgruppe war es in Dosen von 4000 I. E. als LH plazentären Ursprungs (Primogonyl) verabreicht worden. In der 1. Versuchsgruppe, bei der wie in GORDON's Versuchen eine Follikelstimulierung am 17. Tage vorgenommen wurde, sind bei etwa 30 % der Tiere multiple Ovulationen ohne zusätzliche LH-Gaben eingetreten. Bei jenen Tieren, die mit Progesteron behandelt waren (Versuchsgruppen 2 und 3), hat LH die Ovulation der vielen vorhandenen großen Follikel nicht gefördert. Andererseits ist eine nachteilige Wirkung durch dieses Hormon selbst bei hohen Dosen nicht zu befürchten, wenn es zum physiologisch richtigen Zeitpunkt, am Anfang der Brunst, gegeben wird. Die nicht ovulierten Follikel atresieren dabei in der normalen Weise; nur in zwei Fällen wurde histologisch eine beginnende Luteinisierung nachgewiesen.

Ungünstiger muß dagegen der Einsatz von Progesteron für die Ovulation von zwei oder drei Eiern beurteilt werden. Die Versuche, bei enukleierten Kühen durch anschließende Progesterongaben die Reifungsprozesse auf dem Ovar zu "synchronisieren" und für alle Kühe eine gleiche "hormonale Ausgangslage" zu schaffen, haben sich im Hinblick auf das Ovulationsergebnis als Irrweg erwiesen. Wahrscheinlich wurden durch die mehrtägigen hohen Progesterondosen die natürlichen Wachstums- und Atresievorgänge der Follikel auf dem Ovar gestört, so daß durch die unmittelbar folgenden PMS-Injektionen Follikel zu "überstürztem Wachstum" stimuliert wurden, die sich nicht im entsprechenden Reifungszustand befanden. Ein hoher Anteil kleiner und nicht ovulierter großer Follikel wurde auf den Ovarien progesteronbehandelter Kühe immer gefunden, was diese Überlegungen zu bestätigen scheint. Auf diese Weise mag zum Teil auch die im vorliegenden Versuch und von einer Reihe früherer Untersucher gemachte Beobachtung über die geringe Befruchtungsfähigkeit der Eizelle erklärt werden, soweit diese nicht durch progesteronabhängige Umbildungen an den Genitalorganen verursacht wurden.

Außerdem haben sich die Progesterongaben auch nachteilig auf die Brunst ausgewirkt. Die physischen Brunstsymptome waren eindeutig vermindert. Die Brunstdauer war verlängert, und Brunstschleim wurde zum Teil gar nicht oder zur falschen Zeit abgesetzt. Allerdings hatten sich auch die LH-Injektionen in ähnlicher Weise störend auf das Brunstgeschehen ausgewirkt, wenn sie zu früh, d.h. vor Auftreten der ersten Brunsterscheinungen gegeben wurden. Bei den in der 4. Versuchsgruppe verabreichten PMS- und LH-Präparaten wurden keine Störungen in den Brunstmerkmalen beobachtet. Alle Tiere rinderten, zeigten normale Brunstdauer, normale physiologische und psychologische Reaktionen und eine zeitlich richtiggelegene Ovulation am Ende der Brunst.

Wenn es nun gelänge, durch Vervollkommnung der Methodik die guten Ovulationsergebnisse der 4. Versuchsgruppe auch an einem großen Tiermaterial zu bestätigen, so stellen sich Zwillingsträchtigkeiten und Zwillingsgeburten in praxi doch noch erhebliche Schwierigkeiten entgegen. So hatten zum Beispiel GORDON und Mitarbeiter in ihrem Material hohe Eiverluste bzw. Embryonensterblichkeit innerhalb von 42 Tagen gefunden. Bei Zwillingsovulationen waren nach diesem Zeitpunkt nur noch zu etwa 50 % zwei Foeten zu palpieren, bei drei ovulierten Eiern war der Prozentsatz an Mehrlingsträchtigkeiten etwas höher. GORDON glaubt an eine höhere Sterblichkeit der Foeten, wenn die Eizellen vom gleichen Ovar stammen und - da beim Rind Eimigrationen selten sind - sich die Foeten in einem Uterushorn entwickeln. Bei drei Ovulationen fand er meist beide Ovarien beteiligt, und die Foeten implantierten sich dementsprechend in zwei Uterushörnern.

Auch im vorliegenden Material läßt sich prüfen, von welchen Ovarien die ovulierten Eizellen stammen. Danach ist GORDON's Befund grundsätzlich zu bestätigen. Von den insgesamt fünf beobachteten Fällen mit Doppelovulationen waren die Eizellen immer von einem Eierstock freigesetzt worden. Von den acht Kühen, die drei Eizellen ovuliert hatten, stammten diese immer von zwei Ovarien. Falls sich in späteren Untersuchungen ein höhere Sterblichkeit bei Implantationen in einem Uterushorn tatsächlich herausstellen sollte, dann

würde durch den "ungünstigen" Ovulationsort bei zwei Eizellen das Problem der Zwillingsträchtigkeit beim Rind noch weiter kompliziert werden.

Im Hinblick auf eine praktische Erzeugung von Zwillingsträchtigkeiten beim Rind muß schließlich noch diskutiert werden, in wieweit es vielleicht mit Hilfe von Rektaluntersuchungen möglich ist, die Anlage von Zwillingsträchtigkeiten zu "steuern". Theoretisch wäre daran zu denken, durch Rektaluntersuchungen schon vor dem Belegen die Zahl der ovulationsbereiten Follikel und ihre Lage auf den Ovarien der beiden Körperseiten festzulegen, und in ungünstigen Fällen diese Tiere nicht zu belegen, sondern für die nächste Brunst einer zweiten Hormonbehandlung zu unterziehen. Es wäre weiter daran zu denken, überzählige oder ungünstig gelegene Follikel durch rektale Eingriffe zu zerstören oder gar die Zahl der angelegten Embryonen durch manuelle Sprengung der Eihäute zu reduzieren. Das zuletzt genannte Problem ist von GORDON schon experimentell geprüft worden. Dabei hat sich gezeigt, daß von 19 so behandelten Tieren 17 abortierten, wodurch die Unbrauchbarkeit dieser Methode bewiesen sein dürfte.

Die Verwirklichung obiger Vorstellungen hängt allerdings von der Sicherheit ab, mit der Anzahl und Lage der Follikel auf den Ovarien festgestellt werden können. GORDON und Mitarb. haben schon über große Schwierigkeiten bei der Ermittlung der viel festeren und gegen die Ovaroberfläche besser abgegrenzten Gelbkörper berichtet, wenn es sich um mehrere handelte. Um wieviel schwieriger es ist, die schwerer palpierbaren Follikel zu zählen und zu lokalisieren, hat sich in der vorliegenden Untersuchung gezeigt. Die Übereinstimmung zwischen Palpationsbefund und Sektionsbefund der Ovarien war nur gering. Selbst die rektale Ermittlung der Rupturstellen ovulierter Follikel stimmte nur in etwa einem Drittel der Fälle mit dem Schlachtbefund überein. Damit dürfte von dieser Methode nicht die erhoffte Unterstützung bei der Erzeugung von Zwillingsträchtigkeiten zu erwarten sein.

Trotz aller Schwierigkeiten, die sich einer Erzeugung von Zwillingsträchtigkeiten beim Rind gegenwärtig entgegenstellen, müssen die Untersuchungen

weitergeführt und methodisch vervollkommnet werden. Die Gefahren, die in Verbindung mit der Abkalbung von Zwillingskälbern auftreten, sind nach den bisherigen Erfahrungen wahrscheinlich zu meistern. Es ist aber letztlich eine wirtschaftliche Frage, ob die tierzüchterische Praxis diese interessanten Forschungsprobleme jemals verwirklichen wird.

F. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden an 47 Kühen und Rindern Versuche zur Erzeugung von Ovulationen mit zwei und drei Eiern angestellt. Dabei kamen neben Anteron die PMS-Präparate Equoman und Predalon S zur Anwendung. Zur Ovulationsauslösung wurden die LH-Präparate Primogonyl und PLH-Armour verwendet. Progesteron wurde auf seine Fähigkeit geprüft, eine angeglichene Reaktionslage der Tiere auf die PMS-Injektion zu schaffen.

Der im Laufe der Untersuchungen mehrfach geänderten Methodik entsprechend teilten wir das Tiermaterial in vier Gruppen ein.

In der 1. Versuchsgruppe konnten Wirkungsunterschiede der genannten drei PMS-Präparate nicht festgestellt werden. In Übereinstimmung mit anderen Autoren reagierten die 13 Tiere dieser Gruppe auf zwei zwischen dem 15. und 18. Tag gegebene PMS-Injektionen von insgesamt 2000 bis 2500 I. E. sehr unterschiedlich. Polyovulationen fanden sich nur bei vier Tieren, davon setzten zwei je drei Eizellen frei.

Bei den acht Tieren der Versuchsgruppe 2 wurde der periodische Gelbkörper im Stadium der Blüte entfernt. Anschließend bekamen die Tiere fünf bis sieben Tage lang 100 mg Progesteron je Tag. PMS (Anteron) wurde in Dosen zwischen 1000 und 3000 I. E. gegeben. Die auf diese Weise angestrebte Angleichung in der Reaktion traf jedoch nicht ein. Bei der höheren PMS-Dosierung lag die Zahl der Ovulationen zwischen 1 und 9, wobei alle vier Tiere ovulierten. Die vier Tiere der niedrigen Dosierungsgruppe zeigten insgesamt nur zwei Ovulationen, dagegen jedoch eine höhere Anzahl großer Follikel.

Die Absicht, die in Versuchsgruppe 2 gehäuft auftretenden reifen Follikel durch zusätzliche LH-Gaben zur Ovulation zu bringen, konnte bei den zwölf Tieren der Versuchsgruppe 3 nicht realisiert werden. Auch gelang es in dieser Gruppe nicht, trotz Ausschaltung des zyklischen Brunstgeschehens, durch hohe Progesterongaben über einen Zeitraum von 14 bis 19 Tagen die Reaktionen der Versuchstiere einheitlicher zu gestalten. Vielmehr schien das Progesteron die Bildung ovulationsfähiger Follikel gehemmt zu haben.

Die elf Tiere der 4. Versuchsgruppe bekamen am 4. Tag des Zyklus 1500 I.E. PMS und wieder am 16. bis 18. Tag des gleichen Zyklus nach Enukleation 2000 I.E. PMS. Die LH-Dosis in Höhe von 4000 I.E. wurde nach Beginn der Brunst gegeben. Mit vier Zwillings- und vier Drillingsovulationen entspricht das Ergebnis dieser Gruppe durchaus der Zielsetzung dieser Arbeit. Dabei ist hervorzuheben, daß von den 16 geborgenen Eizellen 13 befruchtet waren. Die ausgebliebene Befruchtung von zwei Eizellen ist möglicherweise durch im Uterus befindliches Exsudat zu erklären.

Weiter zeigten diese Versuche, daß Störungen im Fortpflanzungsgeschehen der Tiere nach PMS-Behandlungen nicht zu erwarten sind. Diese Beobachtung scheint durch histologische Befunde bestätigt zu werden. Dagegen ist ein protrahierender Einfluß des Progesterons auf den Ablauf der Brunst bei gleichzeitiger Abschwächung der physischen Brunstsymptome klar zu erkennen. LH vermag, zu früh gegeben, die Brunst zu unterdrücken bzw. ihren Eintritt hinauszuzögern. Mit Beginn der Brunst verabreicht, beeinflußt es den Ablauf derselben nicht.

Der Versuch, durch rektale Untersuchungen Hinweise für die Anzahl der herangewachsenen Follikel und den Zeitpunkt der günstigsten LH-Verabreichung zu bekommen, muß als gescheitert angesehen werden. Nur in etwa 30 % der Fälle stimmten die Befunde über die Follikelzahl sowie über erfolgte Ovulationen mit dem Sektionsbefund überein.

Literaturverzeichnis

ABMAYR, H., 1950 : Über Versuche bei der Anaphrodisie des weiblichen Rindes mit "Equoman" einem Hormonpräparat aus dem Serum trächtiger Stuten. Vet. Med. Diss., München

AMOROSO, E.C., 1955 : Hormone Control of the Oestrous Cycle. Vet. Res. 67, 1072

ASCHEIM, S., ZONDEK, B., 1927 : Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon im Harn von Schwangeren. Klin. Wschr. 6, 1322

AVERY, T.L., COLE, C.L., GRAHAM, E.F., 1962 : Investigations Associated with the Transplantation of Bovine Ova. I. Synchronization of Oestrus. J. Reprod. Fertil. 3, 206

AVERY, T.L., GRAHAM, E.F., 1962 : Investigations Associated with the Transplantation of Bovine Ova. III. Recovery and Fertilization. J. Reprod. Fertil. 3, 218

BESHLEBNOV, A.V., 1938 : zit. nach WILLETT u. Mitarbeiter (56)

BERCHTOLD, M., 1959 : Die Transplantation von Eizellen. Vet. Med. Diss. München

BOLING, J.L. BLANDAU, R.J., SODERWALL, A.L., YOUNG, W.C., 1941 : The growth of the Graafian Follicle and the Time of Ovulation in the albino rat. Anat. Rec. 79, 313

BROCK, H., ROWSON, L.E., 1952 : The Production of Viable Bovine Ova. J. Agr. Sci. 42, 479

CASIDA, L.E., NALBANDOV, A., McSHAN, W.H., MEYER, R.K., WISNICKY, W., 1940 : zit. nach ROWSON (47)

CASIDA, L.E., MEYER, R.K., McSHAN, W.H., WISNICKY, W., 1943 : Effects of pituitary gonadotropins on the ovaries and the induction of superfecundity in cattle. Amer. Journ. Vet. Res. 4, 76

CASIDA, L.E., WARWICK, E.I., MEYER, R.K., 1944 : Surival of multiple pregnancies induced in the ewe following treatment with pituitary gonadotrophins. J. Anim. Sci. 3, 22

CHANG, M.C., 1948 : Probability of Normal Development after Transplantation of Fertilized Rabbit Ova stored at Different Temperatures Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 68, 680

CHANG, M.C., 1949 : The Problems of Superovulation and Egg Transfer in Cattle. Proc. Nat. Egg Transfer Breeding. Conf. April 14, 1949

CHANG, M.C., 1950 : Der gegenwärtige Stand der Säugetierei-Transplantation Wien. Tierärztl. Monschr. 12, 913

CHRISTIAN, R.E., CASIDA, L.E., 1948 : The Effects of Progesterone in altering the Oestrual Cycle of the Cow. J. Anim. Sci. 7, 540

COLE, H.H., 1936 : On the biological properties of more gonadotrophic hormone. Amer. J. Anat. 59, 299

COLE, H.H., CUPPS, P.T., 1959 : Reproduction in Domestic Animals. Vol 1, Academic Press New Yorck

COLE, H.H., HART, G.H., 1930 : zit. nach ABMAYR (1)

VAN DEMARK, N.L., MOELLER, A.N., 1951 : zit. nach WILLET u. Mitarb.

DOWLING, P.F., 1949 : Problems of the Transplantation of Fertilized Ova. J. Agric. Sci., 39, 374

DZIUK, P.J., DONKER, J.D., NICHOLS, J.R., PETERSEN, W.E., 1958 : Problems Associated with the Transfer of Ova Between Cattle. Tech. Bull. Minn. Agr. Exp. Sta. 222

EIBL, K., 1959 : Lehrbuch der Rinderbesamung. Parey, Berlin-Hamburg

ENGLE, T., 1927 : Pregnancy following superovulation in the mouse. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 25, 84

ERNST, K., 1956 : Morphologische und funktionelle Untersuchungen am Rinderovar. Vet. Med. Diss. München

EVANS, H.M., MEYERm K., SIMPSON, M.E., 1953 : zit. nach ABMAYR

EVANS H.M., SWEZY, L.E., 1931 : zit. nach ZUCKERMANN

FOLLEY, S.E., MALLPRESS, F.H., 1944 : The response of the bovine ovary to pregnant mare's serum and horse pituitary extract. Series B. 132, 164

GOETZE, R., 1949 : Besamung und Unfruchtbarkeit der Haussäugetiere. Schaper, Hannover

GORDON, I., 1958 : The Use of Progesterons and Serum Gonadotrophin (PMS) in the Fertility in Sheep. I. The Hormonal Augmentation of Fertility in the Ewe during the Breeding Season. J. Agric. Sci., 50, 152

GORDON, I.G., WILLIAMS, EDWARDS, G., 1962 : Use of Serum Gonadotrophin (PMS) in the Induction of Twin-Pregnancy in the Cow. J. Agr. Sci. 59, 143

HAMMOND, J., jr., 1949 : Induced Twin Ovulations and Multiple Pregnancy in Cattle. J. Agr. Sci., 39, 223

HAMMOND, J. jr., 1955 : zit. nach GORDON

HAMMOND, J., 1962 : Landwirtschaftliche Nutztiere, 1. dtsch. Auflage u. 3. englische, Parey, Berlin-Hamburg

HAMMOND, J., 1962 : Zwillingsgeburten beim Rind durch Hormonbehandlung Der Tierzüchter, 14, 240

HAMMOND, J., jr., BHATTACHARYA, P., 1944 : Control of Ovulation in the Cow., J. Agr. Sci., 34, 1

HARING, F., WENIGER, J.H., ENGELKE, F., 1961 : Steigerung der Mehrlingsgeburten bei Schafen durch PMS. Zuchthygiene, Fortpfl. u. Besamung d. Haustiere, 5, 243

HÖFLIGER, H., 1948 : Das Ovar des Rindes in den verschiedenen Lebensperioden unter Berücksichtigung seiner funktionellen Feinstruktur. Habil-Schrift Zürich

HUHN, J.E., 1959 : Versuche zur Auslösung von Superovulationen bei Rindern und Schafen. Vortrag Dt. Ges. F. Endokrinologie Kiel 29.4.

KÜPFER, M., 1920 : zit nach ERNST

LIPPSCHÜTZ, A., 1936 : zit. nach ABMAYR

LLOYD, C.W., 1959 : Endocrinology of Reproduktion. Academic Press Inc. New Yorck and London

NELLOR, J.E., COLE, H.H., 1956 : The Hormonal Control of Estrous and Ovulation in the Beef Heifer. J. Anim. Sci. 15, 650

PARKES, A.S., 1942 : zit. nach BERCHTOLD

PHILIPSEN, H., 1956 : zit. nach GORDON u. Mitarbeiter

PINCUS, G., 1940 : Superovulation in Rabbits. Anat. Rec. 77, 1

RAJAKOSKI, E., 1960 : The Ovarien Follicle System in Sexually Mature Heifers with Special Reference to Seasonal, Cyclical and Left-Right Variations. Acta Endocrinologica Suppl. 52

ROBINSON, T. J., 1951 : The Control of Fertility in Sheep. J. Agr. Sci. 41, 6

ROMEIS, B., 1948 : Mikroskopische Technik, 15. Aufl. Leibnitz Verlag München

ROWSON, L. E., 1951 : Methods of inducing multiple ovulation in cattle. J. Endocrinol. 7, 260

SCHILLING, E., 1958 : Untersuchungen über den Eitransport bei Wiederkäuern. Verhdl. Dt. Zool. Ges. Frankfurt/Main

SMITH, Ph. E., 1935 : zit. nach ABMAYR

TRIMBERGER, G. W., HANSEL, W., 1955 : Conception rate and ovarian function following estrus control by progesterone injections in dairy cattle. J. Anim. Sci. 14, 224

ULBERG, L. C., CHRISTIAN, R. E., CASIDA, L. E., 1951 : Ovarian response in heifers to progesterone injections. J. Anim. Sci. 10, 257

UMBAUGH, R. E., 1949 : Superovulation and Ovum Transfer in Cattle. Amer. Journ. Vet. Res. 10, 295

WARWICK, B. L., MURPHREE, R. L., CASIDA, L. E. MEYER, R. K., 1943 : Maintenance of the pregnancy induced in the female rabbit following treatment with pituitary gonadotrophins. Anat. Rec. 87, 279

WILLETT, E. L., 1953 : Egg Transfer and Superovulation in Farm Animals. Iowa State Col. Journ. Sci. 28, 83

WILLETT, E. L., McSHAN, W. H., MEYER, R. K., 1952: Relation of Stage of Cycle and Source of Lutenizing hormon to Superovulation in Dairy Cattle. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 79, 396

WILLETT, E. L., BUCKNER, P. J., McSHAN, W. H., 1953 : Refractoriness of Cows Repeatedly Superovulated with Gonadotrophins. J. Dairy Sci. 36, 1083

ZAVADOVSKII, M. M., ESKIN, I. A., OVSJANNIKOV, G. F., 1935 : zit. nach WILLETT

ZAVADOVSKI, M. M., ESKIN, I. A., 1939 : zit. nach WILLETT

ZIETZSCHMANN, O., KRÖLLING, O., 1955 : Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte der Haustiere. 2. Aufl. Parey Berlin-Hamburg

ZONDEK, B., 1930 : zit. nach ABMAYR

ZONDEK , B., 1940 : zit. nach ABMAYR

ZUCKERMANN, S., 1955 : zit nach AMOROSO

ZUCKERMANN, S., 1962 : The Ovary, Vol. I, Academic Press, New Yorck London

ZUCKERMANN, S., PARKES, A. S., 1932 : zit nach ZUCKERMANN

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. H. J. Heidrich für die Überlassung des Themas und für sein großes Interesse an meiner Arbeit herzlich zu danken. Er und sein Oberassistent, Herr Dr. J. E. Huhn gaben mir wertvolle Ratschläge und Hinweise.

Von ganzem Herzen danke ich Herrn Professor Dr. M. Witt für die großzügige Förderung, die er mir gewährte und wodurch die Anfertigung dieser Arbeit überhaupt erst möglich wurde. Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. E. Schilling, Mariensee, für die Beschaffung des Untersuchungsmaterials, für die hilfsbereite wissenschaftliche Anleitung im Laufe der Untersuchung und bei der Abfassung des Manuskriptes.

Die Firma Schering AG., Berlin hat in dankenswerter Weise einen Teil der verwendeten Hormone zur Verfügung gestellt, und ihrem wissenschaftlichen Mitarbeiter, Herrn Dr. W. Jöchle, verdanke ich wertvolle Hinweise.

LEBENSLAUF

Als Sohn des Landwirtes Robert Holm und seiner Ehefrau Marie geb. Schütt wurde ich, Walter Holm, am 27. Mai 1932 in Klein Stove, Kreis Rostock, geboren. Von 1939 bis 1943 besuchte ich die Volksschule in Kritzmow, von 1943 bis 1951 die Oberschule in Rostock, die ich am 8. Juni 1951 nach bestandener Reifeprüfung verließ.

Zum Sommersemester 1954 wurde ich an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert. Hier legte ich am 12. Mai 1956 die tierärztliche Vorprüfung ab und bestand am 14. Juli 1959 die tierärztliche Prüfung.

Nach Ableistung der Praktikantenzeit wurde mir am 15. April 1960 die Approbation erteilt. Nach eineinhalbjähriger Tätigkeit als Assistent in der tierärztlichen Praxis erhielt ich die Möglichkeit, im Max-Planck-Institut, Mariensee, die vorliegende Arbeit anzufertigen.

Druck: Max-Planck-Gesellschaft — Dokumentationsstelle